



UNIVERSIDAD MICHOACANA DE SÁN NICOLÁS DE HIDALGO

INSTITUTO DE INVESTIGACIONES

METALÚRGICAS



**OPTIMIZACIÓN Y CARACTERIZACIÓN DE ESPONJAS DE VIDRIO  
BIOACTIVO PARA APLICACIONES ORTOPÉDICAS**

Tesis para optar al grado de:

**Maestro en Metalurgia y Ciencias de los Materiales**

PRESENTA:

**ING. ESMERALDA VILICAÑA MOLINA**

ASESOR:

**PhD. ENA ATHENEA AGUILAR REYES.**

COASESOR:

**PhD. LOUIS PHILIPPE LEFEVRE.**

MORELIA, MICHOACÁN, JUNIO DEL 2013.

## **AGRADECIMIENTOS.**

Primero que nada, le doy gracias a mis padres, ya que sin su ayuda no sería la mujer que esta escribiendo estas palabras, por haberme apoyado en todas mis decisiones y por haberme brindado el tesoro más grande que un padre puede dejar a un hijo: la educación.

Gracias a mis hermanos y a mi esposo, por haber estado a mi lado durante todo este ciclo y por haberme brindado consejos y ayuda cuando más los necesité.

Gracias al Instituto de Investigaciones Metalúrgicas de Universidad Michoacana de San Nicolás de Hidalgo por haberme abierto sus puertas y brindado la oportunidad de realizar mis estudios en un ambiente lleno de apoyo.

Gracias a mi asesora, la Dr Ena Athenea Aguilar Reyes y a mi coasesor el Dr Louis Philippe Lefevre por su apoyo, sus consejos, su dedicación y su empeño en que mi trabajo tuviera resultados favorables, por haberme aceptado en su grupo de trabajo y darme la oportunidad de crecer un poco como Investigadora.

Gracias al Instituto de Materiales Industriales (Boucherville Quebec, Canadá), y a todo su equipo de trabajo por su gran ayuda durante mi estancia en sus instalaciones.

Gracias al CONACYT, por el apoyo económico brindado durante esta etapa de mi vida.

Gracias a mis compañeros del Instituto por haber creado de esta estancia una etapa llena de recuerdos y compañerismo.

Y sin olvidar, gracias a Dios por haberme dejado llegar al lugar donde me encuentro ahora, en compañía de la mayoría de mis seres queridos, por darme la fuerza y el valor para levantarme cada mañana y seguir adelante, por dejarme existir en cuerpo y alma durante mis estudios y por brindarme todo lo necesario para lograr siempre lo que quiero.

## **DEDICATORIA.**

A mi padre y madre, en especial a mi padre, Miguel, que donde quiera que se encuentre fue el hombre que mas consejos y apoyo me brindó para realizar una Maestría y porque sé que desde allá arriba me está viendo y está orgulloso de mi logro.

A Neftali, que ha estado a mi lado durante toda mi carrera, primero como amigo, después como novio y ahora como mi esposo, por su gran apoyo y compañía.

Y por ultimo este trabajo se lo dedico a alguien muy especial que viene en camino y que espero que Dios me de licencia de tenerlo en mis brazos.

## CONTENIDO

AGRADECIMIENTOS.....	ii
DEDICATORIA.....	iii
INDICE DE FIGURAS .....	viii
INDICE DE TABLAS.....	xi
GLOSARIO .....	xiii
RESUMEN.....	xv
ABSTRACT .....	xvi
I.- INTRODUCCIÓN .....	17
I.1 Objetivos .....	19
Objetivo general .....	19
Objetivos particulares.....	19
I.2 Justificación del tema .....	20
I.3 Hipótesis .....	20
I.4 Meta del proyecto .....	21
II. REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA .....	22
II.1 Los biomateriales .....	22
II.1.1 <i>Definición de biomaterial</i> .....	22
II.1.2 <i>Generalidades de los biomateriales</i> .....	23
II.1.3 <i>Clasificación de los biomateriales</i> .....	23
II.1.4 <i>Los biomateriales cerámicos y sus aplicaciones biomédicas</i> .....	25
II.2 Composición de los tejidos duros del cuerpo humano.....	25
II.3 Las funciones del tejido óseo .....	26
II.4 El hueso como tejido.....	27
II.4.1 <i>Los tipos de hueso</i> .....	27

II.4.2 <i>Organización del tejido óseo y la matriz extracelular</i> .....	28
II.5 La ingeniería de tejidos .....	29
II.5.1 <i>Estrategias de la ingeniería de tejido óseo</i> .....	30
II.5.2 <i>Andamios para ingeniería de tejidos</i> .....	31
II.6 Clasificación de los sustitutos óseos .....	33
II.7 Vidrios bioactivos y su relación con el sistema óseo .....	33
II.7.1 <i>Evaluación de la bioactividad</i> .....	35
II.7.2 <i>Simulated Body Fluid (SBF) [45]</i> .....	37
II.8 Hidroxiapatita sintética .....	38
II.9 Métodos para sintetizar cerámicos porosos.....	39
II.9.1 <i>Método de la réplica</i> .....	39
II.9.2 <i>Método del molde de sacrificio</i> .....	41
II.9.3 <i>Método del espumado directo</i> .....	42
II.9.4 <i>Método por tecnología de polvos</i> .....	43
II.10 Antecedentes .....	44
III. DESARROLLO EXPERIMENTAL .....	58
III.1 Materias primas.....	58
III.2 Elaboración del vidrio bioactivo 45S5.....	58
III.2.1 <i>Caracterización del polvo del biovidrio 45S5</i> .....	59
III.3 Producción de las espumas de vidrio bioactivo 45s5 .....	59
III.4 Caracterización de las espumas de vidrio bioactivo 45S5 .....	65
III.4.1 <i>Morfología de la superficie</i> .....	66
III.4.2 <i>Microtomografía de rayos X (<math>\mu</math>CT)</i> .....	66
III.4.3 <i>Análisis de las fases presentes (DRX)</i> .....	67
III.4.4 <i>Determinación de la superficie específica</i> .....	67

III.5 Pruebas mecánicas de compresión.....	68
III.6 Evaluación de la bioactividad.....	69
III.6.1 Esterilización de los discos.....	69
III.6.2 Preparación de los medios de inmersión.....	70
III.6.3 Procedimiento para la inmersión.....	72
III.6.4 Control del pH.....	74
III.7 Caracterización de las espumas, después de la inmersión en SBF.....	75
III.7.1 Análisis de las fases presentes.....	75
III.7.2 Morfología de la superficie.....	75
III.7.3 Análisis relativo de la composición.....	76
III.7.4 Análisis por espectrometría infrarroja (FTIR).....	76
III.7.5 Control de la variación de masa.....	77
IV. ANÁLISIS Y DISCUSIÓN DE RESULTADOS.....	78
IV.1 Resultados de la caracterización del polvo de vidrio bioactivo 45S5.....	78
IV.1.1 Granulometría.....	78
IV.1.2 Resultados de DRX del vidrio bioactivo 45S5.....	79
IV.1.3 Resultados del análisis térmico diferencial.....	80
IV.1.4 Resultados de fluorescencia de rayos X (FRX) del vidrio 45S5.....	81
IV.2 Resultados de la producción de espumas de vidrio bioactivo 45S5.....	81
IV.3 Resultados de las espumas de vidrio bioactivo 45s5, antes de la inmersión en SBF.....	87
IV.3.1 Micrografías mediante MEB del las espumas de vidrio bioactivo 45S5.....	87
IV.3.2 Microtomografía de rayos X ( $\mu$ CT).....	88
IV.3.3 Resultados de DRX de las espumas de vidrio bioactivo 45S5.....	89
IV.3.4 Superficie específica de las espumas de vidrio bioactivo 45S5.....	90
IV.4 Resultados de las pruebas de compresión.....	90

IV.5 Resultados de bioactividad .....	97
IV.5.1 Monitoreo del pH después de la inmersión en SBF .....	97
IV.5.2 DRX a las muestras después de haber sido sumergidas en SBF .....	99
IV.5.3 MEB y EDS de las muestras después de la inmersión en SBF .....	100
IV.5.4 Prueba de espectroscopía infrarroja –FTIR.....	103
IV.5.5 Resultados de variación de masa.....	104
CONCLUSIONES.....	106
REFERENCIAS .....	107

## INDICE DE FIGURAS

<b>Fig 2. 1</b> Aplicaciones biomédicas de los materiales cerámicos. [16].....	25
<b>Fig 2. 2</b> Tipos de huesos dependiendo de su forma [23].....	28
<b>Fig 2. 3</b> Tipo de hueso dependiendo de su densidad. ....	28
<b>Fig 2. 4</b> Estructura interna del hueso. [18] .....	29
<b>Fig 2. 5</b> Estrategia de ingeniería de tejidos. [27].....	30
<b>Fig 2. 6</b> Clasificación de los vidrios dependiendo su composición en el diagrama ternario SiO <sub>2</sub> -Na <sub>2</sub> O -CaO. [41].....	34
<b>Fig 2. 7</b> Proceso de formación de la capa apática. Adaptado [46] .....	37
<b>Fig 2. 8</b> Estructura cristalina de la hidroxiapatita sintética. [47].....	39
<b>Fig 2. 9</b> Técnica de la réplica. [6].....	41
<b>Fig 2. 10</b> Método del molde de sacrificio. [6] .....	41
<b>Fig 2. 11</b> Método del espumado directo. [6] .....	42
<b>Fig 2. 12</b> Método por tecnología de polvos. [51] .....	43
<b>Fig 2. 13</b> Micrografía de espumas de titanio para implantes biomédicos. [52] .....	44
<b>Fig 2. 14</b> Morfología de espumas de titanio para implantes biomédicos [52]. ....	45
<b>Fig 2. 15</b> Evolución de la capa apática en andamios MBG y resultados de infrarrojo. [53].....	46
<b>Fig 2. 16</b> Micrografías de espumas de biovidrio 45S5 sinterizadas a diferentes temperaturas (a)–(b) 900 °C/5 h; (c)–(d) 950 °C/2 h; and (e)–(f) 1000 °C/ 1 h. [54].....	47
<b>Fig 2. 17</b> DRX, espectro de las espumas de vidrio 45S5 sinterizadas a 1000 °C por 1 h e inmersas en SBF durante 3, 7, 14 y 28 días. Los picos de Na <sub>2</sub> Ca <sub>2</sub> Si <sub>3</sub> O <sub>9</sub> y de hidroxiapatita están marcados por (▼) y (●) respectivamente [54].....	48
<b>Fig 2. 18</b> Imágenes de MEB de los andamios regenerativos antes y después de haber sido sumergidos en SBF por 24 hrs, MBGS 100S (a, b), MBGS 90S5C (c, d), MBGS 80S15C (e, f) y MBGS 70S25C (g, h). [56].....	50
<b>Fig 2. 19</b> Concentración de calcio en las soluciones [61] .....	52

<b>Fig 2. 20</b> Variación del pH respecto a la solución utilizada [61] .....	53
<b>Fig 2. 21</b> Imágenes de MEB de la superficie de los andamios regenerativos después de la inmersión de 7 días. (a) Imagen de baja magnificación y (b, c) alta magnificación. [62] .....	55
<b>Fig 3. 1</b> Perfil térmico para la obtención de vidrio bioactivo 45S5 .....	58
<b>Fig 3. 2</b> Analizador Beckman Coulter LAS 13 320. ....	59
<b>Fig 3. 3</b> Balanza analítica y componentes de las espumas de biovidrio 45S5. ....	61
<b>Fig 3. 4</b> Túbula F-20. ....	61
<b>Fig 3. 5</b> Moldes utilizados para espumar las probetas y horno eléctrico tipo mufla, usado para el perfil térmico. ....	62
<b>Fig 3. 6</b> Perfil térmico diseñado para el espumado .....	62
<b>Fig 3. 7</b> Espuma de biovidrio: a) antes y b) después de maquinar. ....	63
<b>Fig 3. 10</b> Perfil térmico diseñado para la pirólisis y sinterizado de las espumas de biovidrio 45S5. ....	64
<b>Fig 3. 9</b> Horno usado para la pirólisis y sinterización de las probetas. ....	64
<b>Fig 3. 8</b> Acomodo de las probetas en la placa para un mejor sinterizado. ....	64
<b>Fig 3. 11</b> a) probeta de biovidrio, después de ser maquinada. b) pieza diseñada y maquinada para realizar el corte de las pastillas con 3 mm de espesor. c) pastillas finales de biovidrio 45S5. ....	65
<b>Fig 3. 12</b> Sistema XTek HMXST 225 de Metris, IMI (Boucherville Quebec Canadá). ....	67
<b>Fig 3. 13</b> Analizador de área superficial, HORIBA- SA 9600 series. ....	68
<b>Fig 3. 14</b> Máquina universal MTS .....	68
<b>Fig 3. 15</b> Baño de ultrasonido radial utilizado para la esterilización de las pastillas. ....	69
<b>Fig 3. 16</b> Campana de flujo laminar usada para el proceso de inmersión de los discos. ....	73
<b>Fig 3. 17</b> Tubos usados para la inmersión de los discos. ....	73

<b>Fig 3. 18</b> Tubos con la solución utilizada de cada muestra para analizar sus pH, mantenidos a 37°C en una estufa biológica. ....	74
<b>Fig 3. 19</b> Medidor de pH Fisher scientific AB15, usado para medir el pH de la solución después de cada tiempo de inmersión. (Instituto de investigaciones Químico- Biológicas, UMSNH) .....	74
<b>Fig 3. 20</b> Esquema del procedimiento de fractura de las pastillas. ....	76
<b>Fig 3. 21</b> Disco dentro de la caja petri, listo para ser secado a 120° C y después pesado.....	77
<b>Fig 4. 1</b> Curva de distribución de tamaño de partícula del biovidrio 45S5 obtenido por fusión. ....	78
<b>Fig 4. 2</b> Difractograma del vidrio 45S5 obtenido mediante fusión. ....	79
<b>Fig 4. 3</b> Análisis por calorimetría diferencial de barrido del vidrio 45S5.....	80
<b>Fig 4. 4</b> Espumas de biovidrio antes de la pirólisis y el sinterizado.....	85
<b>Fig 4. 5</b> Espuma de biovidrio 45S5. ....	86
<b>Fig 4. 6</b> Diferentes vistas de las espumas de biovidrio 45S5 obtenidas. ....	86
<b>Fig 4. 7</b> Espumas de biovidrio 45S5 después del corte para su inmersión en SBF.....	86
<b>Fig 4. 8</b> Micrografías de las espumas antes de ser sumergidas en SBF, mayor magnificación sucesivamente de A-E. ....	88
<b>Fig 4. 9</b> Microtomografías de una espuma de vidrio bioactivo, antes de ser sumergida en SBF. ....	88
<b>Fig 4. 10</b> Análisis de tamaño de poro. ....	89
<b>Fig 4. 11</b> Fases obtenidas por medio de DRX de las espumas, antes de ser sumergidas en SBF. ....	90
<b>Fig 4. 12</b> Grafica carga-distancia de compresión del primer grupo de espumas.....	91
<b>Fig 4. 13</b> Resistencia a la compresión del segundo grupo de espumas. ....	92
<b>Fig 4. 14</b> Grafica que muestra el modulo de Weibull. ....	94

<b>Fig 4. 15</b> Gráfica que nos muestra la probabilidad de falla de las probetas respecto a la resistencia a la compresión. ....	95
<b>Fig 4. 16</b> Cambio de la densidad respecto a la porosidad de las pastillas obtenidas.....	98
<b>Fig 4. 17</b> Variación del pH respecto al tiempo, en las dos mediciones.....	99
<b>Fig 4. 18</b> Patrones de difracción de rayos X mostrando la evolución de la capa de hidroxiapatita (▼). ....	100
<b>Fig 4. 19</b> Morfología de la secciones transversales obtenidas por microscopía electrónica de barrido, de espumas de vidrio bioactivo 45S5, al tiempo inicial (a), e inmersas en SBF durante 1 (b), 3(c), 7(d) ,14(e),21(f) y 28(g) días. ....	103
<b>Fig 4. 20</b> Análisis de espectroscopía infrarroja. ....	103

## INDICE DE TABLAS.

<b>Tabla II. 1</b> Clasificación de los Biomateriales según su tipo de respuesta. ....	24
<b>Tabla II. 2</b> Clasificación de los Biomateriales en función de su estructura. ....	24
<b>Tabla II. 3</b> Reactivos y cantidades que conforman la Solución SBF. mM (=mmol/dm <sup>3</sup> ).....	38
<b>Tabla III. 1</b> Diferentes relaciones biovidrio-espúmate-ligante probadas para obtener una espuma con buenas propiedades físicas y mecánicas. ....	60
<b>Tabla III. 2</b> Composición de las espumas bioactivas 45S5.....	63
<b>Tabla III. 3</b> Cantidades de sales a añadir para obtener el SBF y sus purezas respectivas .....	71
<b>Tabla IV. 1</b> Resultados de FRX de la composición del vidrio obtenido en esta investigación. ....	81
<b>Tabla IV. 2</b> Características de las primeras espumas obtenidas.....	82
<b>Tabla IV. 3</b> Características de las espumas fabricadas con la resina No 1.....	83
<b>Tabla IV. 4</b> Características de las espumas fabricadas con la resina No 2.....	84
<b>Tabla IV. 5</b> Características de las 14 espumas elegidas. ....	85

<b>Tabla IV. 6</b> Valores de resistencia a la compresión del segundo grupo de espumas .....	92
<b>Tabla IV. 7</b> Algunos resultados de resistencia a la compresión de estructuras porosas.....	96
<b>Tabla IV. 8</b> Dimensiones de las pastillas fabricadas para la inmersión en SBF .....	97
<b>Tabla IV. 9</b> Variación del pH respecto al tiempo.....	99
<b>Tabla IV. 11</b> Bandas obtenidas en FTIR. ....	104
<b>Tabla IV. 11</b> Porcentaje de variación de masa en los discos usados en las pruebas de bioactividad. ....	105

## GLOSARIO

**Aloinjerto:** Transferencia de un tejido entre dos individuos de la misma especie pero genéticamente diferentes, como en los trasplantes realizados entre dos seres humanos que no son gemelos idénticos.

**Bioactividad:** Capacidad de formar un enlace directo con el hueso, sin interposición de una cápsula fibrosa.

**Biocompatibilidad:** Habilidad de un material para actuar con una respuesta del huésped apropiada a una reacción específica.

**Biomaterial:** Material del que interactúa interracialmente con sistemas biológicos con el fin de evaluar, tratar, aumentar o substituir algún tejido, órgano o función del organismo.

**Citocina:** Aminoácido que regulan la función de las células que las producen u otros tipos celulares. Son los agentes responsables de la comunicación intercelular.

**Colágeno:** Sustancia proteínica albuminoidea que existe en el tejido conjuntivo, en los cartílagos y en los huesos.

**Densidad aparente:** Densidad del volumen del material, incluyendo poros y vacíos presentes en el mismo.

**Densidad esquelética:** Densidad real del material, sin considerar poros o vacíos presentes en el mismo.

**Dentina:** Marfil que forma la mayor parte del diente y protege el nervio.

**Endostio:** Tejido que corresponde al periostio interno que tapiza la cavidad medular de un hueso.

**Espuma.** Sistema disperso en que la fase continua está formada por un líquido o un sólido mientras que la fase dispersa está constituida por un gas.

**HA.** Hidroxiapatita. Su fórmula molecular  $\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2$ .

**Homeostasis:** Conjunto de fenómenos de autorregulación que intentan mantener equilibradas las composiciones y las propiedades del organismo.

**Hematopoyesis:** Formación o producción de sangre, en especial de sus elementos celulares.

**In vitro:** Que se produce u ocurre en un tubo de ensayo.

**In vivo:** Que está situado u ocurre en un cuerpo vivo.

**Ingeniería de tejidos:** Especialidad que aplica los principios de la ingeniería y las ciencias de la vida a la fabricación de sustitutos biológicos que mantengan, mejoren o restauren la función de órganos y tejidos en el cuerpo humano.

**Macroporosidad.** Porosidad asociada a interconexiones de poros de un diámetro superior a  $10\mu\text{m}$ .

**Microporosidad:** Porosidad asociada a interconexiones de poros de un diámetro de entre  $0.1\mu\text{m}$  e inferior a  $10\mu\text{m}$ .

**Nanocompuesto:** material caracterizado por la dispersión homogénea de partículas de relleno de dimensiones nanométricas en el interior de una matriz.

**Nanoporosidad:** Porosidad asociada a interconexiones de poros de un diámetro inferior a  $0.1\mu\text{m}$ .

**Surfactante:** Compuesto constituido por una zona de carácter hidrófobo y otra de carácter hidrófilo que se acumula en la interface de un sistema heterogéneo reduciendo la tensión superficial. Agente tenso activo.

**Osteoconducción:** Capacidad que posee un material de conducir o guiar el crecimiento del hueso.

**Osteoinducción:** Capacidad que posee un material de estimular la producción de tejido óseo.

**Periostio:** Membrana fibrosa que rodea los huesos y sirve para su nutrición y renovación.

**Porosidad:** Porcentaje de volumen vacío de un material, que no está ocupado por una fracción sólida.

**Reabsorbible:** Propiedad de un material de degradarse químicamente, absorbiéndose de forma controlada mientras es reemplazado por tejido óseo.

**Regeneración:** Sustitución progresiva de un material por tejido nuevo.

**Resección:** Extirpación quirúrgica de parte o de la totalidad de un órgano.

**Xenoinjerto:** Injerto de tejido procedente de un donante de una especie diferente a la del receptor.

**SBF:** Fluido corporal simulado (*Simulated body fluid*). Fluido que posee concentraciones iónicas casi iguales a aquellas del plasma sanguíneo humano, utilizado para la predicción del comportamiento *in vivo* de biomateriales.

## RESUMEN

En la presente investigación se fabricaron espumas de vidrio bioactivo 45S5, 45% SiO<sub>2</sub> – 24.5% CaO – 24.5% Na<sub>2</sub>O – 6% P<sub>2</sub>O<sub>5</sub> en peso, variando la composición inicial: espumante/ligante/biovidrio, a través de un proceso novedoso de tecnología de polvos y espumado de polímeros, patentado por el Instituto de Materiales Industriales (IMI - Industrial Materials Institute, Boucherville, QC, Canadá).

Inicialmente, se realizaron varias mezclas, de las cuales se eligió la óptima de 0.50% espumante/54.50% ligante/45% biovidrio, en peso. El mezclado de los polvos se llevó a cabo en una túbula y se llevó a cabo una pequeña compactación con la mano en moldes de alúmina. Las pastillas así obtenidas se sometieron a un tratamiento térmico de dos etapas, la primera de espumado y la segunda de pirolisis y sinterizado en el mismo perfil térmico, con el objetivo de obtener espumas con buenas propiedades mecánicas así como una buena respuesta bioactiva bajo pruebas de inmersión en fluido corporal simulado (SBF). La temperatura de sinterización de las espumas fue de 975°C.

Posteriormente, las espumas se maquinaron para obtener cilindros uniformes en dimensión para las pruebas mecánicas, y otras se cortaron en pastillas que fueron inmersas en SBF para las pruebas de bioactividad durante 0, 1, 3, 7, 14, 21 y 28 días.

La caracterización de las espumas antes de la inmersión en SBF se realizó mediante microscopía electrónica de barrido (MEB) y microtomografía ( $\mu$ CT), además se realizaron pruebas de compresión, determinación de porosidad y densidad. Después de la inmersión se observaron mediante MEB y se analizaron por EDS, difracción de rayos X (DRX) y espectroscopia infrarroja (FT-IR), y se realizó el cálculo de variación de masa.

Las espumas obtenidas por la metodología experimental descrita anteriormente presentaron una porosidad interconectada del 65%, una resistencia a la compresión promedio de 12 MPa, y presentaron la formación de la capa de hidroxiapatita a los 7 días de haber sido inmersas en SBF, cumpliendo con los requisitos para poder utilizarse como andamios regenerativos. El método propuesto de tecnología de polvos y espumado de polímeros permite controlar la porosidad y resistencia a la compresión de las espumas mediante la variación de la relación espumante/ligante/biovidrio y la temperatura de sinterización.

## **ABSTRACT**

This project aims to produce 45S5 bioactive glass foams, (45% SiO<sub>2</sub> - 24.5% CaO - 24.5% Na<sub>2</sub>O - 6% P<sub>2</sub>O<sub>5</sub>) , varying the initial composition: foaming / binder / bioglass, through a novel process of powder technology and polymer foam, patented by the *IMI (Industrial Materials Institute, Boucherville, QC, Canada)*.

Initially, there were proved various mixtures of which was chosen the optimal one, it was 0.50% foaming / 54.50% binder / 45% bioglass, wt%. The mixing of the powders was carried out in a shaker-mixer and it was compacted in molds of alumina.

The samples obtained were submitted to a heat treatment in two stages, the first one, foaming, and the second one, pyrolysis and sintering in the same thermal profile, with the goal of obtaining foams with good mechanical properties and a good bioactive response by immersion in SBF. The sintering temperature of foams was 975 ° C.

Subsequently, the samples were machined to obtain uniform cylinder dimensions for mechanical testing from which there were some cut into slices (discs) that were immersed in SBF for bioactivity tests for 0, 1, 3, 7, 14, 21 and 28 days.

The characterization of foams before immersion in SBF was performed by scanning electron microscopy (SEM) and microtomography ( $\mu$ CT) also they were tested for compression, porosity determination and determine density. After immersion the samples were observed with SEM and analyzed by EDS, X ray diffraction (XRD) and infrared spectroscopy (FT-IR), also the mass variation was estimated.

The foams obtained by the experimental method described above, showed a 65% interconnected porosity an average compressive strength of 12 MPa, and showed the formation of hydroxyapatite layer after 7 days having been immersed in SBF, fulfilling the requirements to be used as a regenerative scaffold.

The proposed method of powder technology and foamed polymers, allow controlling the porosity and compression strength of the foams by varying the ratio foaming / binder / bioglass and sintering temperature.

## I.- INTRODUCCIÓN

Durante la década de los 70's, con el propósito de ayudar a resolver el problema de los típicos movimientos de las prótesis después de cierto tiempo de haber sido implantadas, e incluso fracturas que se observaban en los componentes sustitutivos de articulaciones óseas o de prótesis que se fijan al hueso mediante cementos acrílicos, surgió la idea de aumentar la superficie de contacto entre el hueso y la prótesis por medio de técnicas de implantación sin cementos.

Estas técnicas tienen como objetivo principal conseguir una mejor integración y evitar concentraciones de esfuerzos que permitan obtener andamios más durables, basándose principalmente en el crecimiento de aproximación y de la integración que experimenta el tejido óseo en las microestructuras abiertas [1].

La biocompatibilidad de la hidroxiapatita y la similitud de su estructura cristalina con el hueso mineral son de gran interés para que se considere su uso en implantes ortopédicos [2]. El concepto de implantes porosos que desarrollen o sean completamente de hidroxiapatita, con tamaños de poro y porosidades interconectadas similares a las de la estructura ósea, ha sido introducido de manera reciente [3]. A consecuencia de que la hidroxiapatita puede ser absorbida por los osteoblastos, se produce una fijación excelente de la prótesis debido a la formación de interfaces indefectibles entre el hueso y el implante o su recubrimiento. Estos implantes ofrecen propiedades inertes y estabilidad mecánica en la interface desarrollada cuando el hueso crece dentro de los poros dando como consecuencia reparación osteointegrada.

Sin embargo, los cerámicos porosos están limitados para aplicaciones de baja o nula carga; cuando la carga no es un requerimiento primario, los cerámicos porosos inertes, pueden proporcionar un implante funcional [4].

En las estructuras porosas, el tamaño mínimo de los poros deben permitir la integración mediante el crecimiento de los vasos sanguíneos y capilares que aseguren la irrigación de las células óseas. El potencial regenerativo del tejido de los biomateriales se ha demostrado *in vivo* y en la práctica clínica; los biomateriales investigados para este uso han sido ciertas

composiciones de vidrios bioactivos que ofrecen la capacidad para adaptarse a los tejidos blandos y/o duros, regenerándolos.

El vidrio bioactivo Bioglass® 45S5 es el que presenta el mayor potencial para ser usado como materia prima en la fabricación de andamios regenerativos y para ser implantado en una gran cantidad de componentes del sistema óseo humano. Estudios recientes han demostrado que entre más poroso sea un vidrio bioactivo, mayor será su capacidad para regenerar el tejido humano por medio de la producción de hidroxiapatita. [5].

En la actualidad existen tres técnicas para producir espumas de biovidrio; la técnica de la réplica, la técnica de sacrificio y la técnica de espumado directo. [6]

En el presente trabajo, se sinterizaron y estudiaron espumas de biovidrio 45S5 mediante un proceso de tecnología de polvos, el cual consiste en tres etapas; espumado, pirólisis y sinterizado. Como primera etapa se hicieron pruebas de espumado con diferentes relaciones ligante/espumante/biovidrio, para elegir la relación óptima y comenzar la producción de las espumas para las pruebas posteriores de caracterización microestructural, resistencia mecánica y bioactividad. El estudio de bioactividad se realizó *in vitro* por inmersión de las espumas de biovidrio en fluido corporal simulado (*SBF – Simulated Body Fluid*) y se caracterizaron posteriormente para determinar la formación de la capa de hidroxiapatita fundamental para determinar la capacidad bioactiva de las espumas.

El tema de estudio se desarrolló en esta tesis en capítulos. El Capítulo 1 incluye la introducción, la justificación, los objetivos, la hipótesis y las metas del proyecto.

En el Capítulo 2, se presentan generalidades sobre los biomateriales y la ingeniería de tejidos, se habla también sobre las primeras investigaciones que dieron como resultado la formulación de los vidrios bioactivos y se realiza una revisión sobre el estudio de la bioactividad de varios tipos de andamios de vidrio bioactivo con aplicaciones de prótesis óseas con respecto a la porosidad y resistencia mecánica, así como el método de fabricación.

El Capítulo 3, corresponde a la descripción de la metodología experimental empleada en la fabricación de las espumas de biovidrio y las técnicas empleadas para la caracterización del polvo y las espumas de biovidrio 45S5. Las técnicas experimentales de caracterización incluyen la difracción de rayos X (DRX), fluorescencia de rayos X (FRX), microscopía

electrónica de barrido (MEB), microanálisis por espectroscopía de rayos X de energía dispersiva (EDS), espectroscopía de infrarrojo (FTIR) y microtomografía ( $\mu$ CT); la caracterización de las espumas se realizó antes y después de la inmersión en SBF.

En el Capítulo 4, se reportan y se discuten los resultados obtenidos, así como la comparación de los resultados de la presente investigación con los resultados reportados en la literatura por varios investigadores en el área de la ingeniería de tejidos, lo cual conduce a la formulación de conclusiones y recomendaciones para trabajo futuro que se resumen en el Capítulo 5. Finalmente, la última sección corresponde a las referencias consultadas y revisadas en la realización del presente trabajo.

## **I.I Objetivos**

### **Objetivo general**

Estudiar la bioactividad de espumas de biovidrio 45S5 por medio de inmersión en fluido corporal simulado, que cumplan con los criterios de resistencia mecánica y estructura de una matriz tridimensional, obtenidas por un proceso novedoso de tecnología de polvos, controlando la relación de espumante/ligante/biovidrio.

### **Objetivos particulares**

- Estudiar la relación másica espumante/ligante/biovidrio en la estructura celular de las espumas de biovidrio.
- Estudiar la resistencia mecánica a la compresión de las espumas de biovidrio y su relación con las características morfológicas de las estructuras porosas.
- Estudiar la bioactividad de las espumas de biovidrio, mediante ensayos *in vitro* por inmersión de probetas en fluido corporal simulado (SBF).
- Comprobar la formación de la capa de hidroxiapatita en las espumas de vidrio bioactivo por medio de MEB.

## **I.2 Justificación del tema**

A lo largo del último siglo, se han mejorado de manera importante las condiciones sanitarias de los espacios clínicos y protocolos médicos, aumentando la esperanza de vida de los individuos. Por lo tanto, la pirámide demográfica de edades de estos países ha sufrido cambios importantes. En efecto, la población mundial tiene y seguirá teniendo una tendencia muy marcada al envejecimiento con lo cual incrementa el riesgo de enfermedades y de defectos óseos. A causa de la osteoporosis, enfermedad que consiste en una baja del contenido mineral del hueso, el hueso se vuelve más frágil y el riesgo de fracturas causadas de accidentes domésticos cada día es más elevado.

El daño total o parcial de tejido y la pérdida de la función de un órgano se encuentran entre los problemas más graves y costosos de la salud humana.

Si nos enfocamos en el sistema óseo, hay una infinidad de casos en los que la pérdida no es total sino parcial y no hay maneras efectivas de bajo costo para resolver el problema.

Hoy en día existe una baja disponibilidad de donantes mientras que la mayoría de los defectos del hueso se curan empleando autoinjertos. En estas prácticas, el material óseo se extrae de los huesos del mismo paciente, con lo cual existen riesgos de afección de la zona en la que se extrae y la posibilidad de operar al paciente dos veces. Se ha intentado desarrollar técnicas empleando aloinjertos o xenoinjertos pero existe el riesgo de transmisión de enfermedades, lo que hace que la demanda en biomateriales sintéticos de sustitución aumente cada año, éstos son costosos y no se producen con suficiencia, mientras tanto, cada año muere un gran número de pacientes en listas de espera. [7]

Debido a que hay partes específicas de huesos que requieren mejores propiedades mecánicas y mayor porosidad, basados en la ingeniería de tejidos, el presente estudio pretende optimizar espumas bioactivas con porosidad interconectada para restaurar, mantener o mejorar la función de un componente óseo mediante la creación de sustitutos biológicos que incluyan el crecimiento de células.

## **I.3 Hipótesis**

La composición del biovidrio 45S5 cumple con los requerimientos biológicos para ser usado en la obtención de andamios regenerativos. A través del control de la relación espumante-

ligante-biovidrio, se pretende obtener mediante un proceso de espumado, estructuras celulares con propiedades mecánicas y de bioactividad semejantes a las del hueso esponjoso humano para ser empleadas como implantes ortopédicos.

#### **I.4 Meta del proyecto**

Sintetizar espumas de biovidrio 45S5 mediante tecnología de polvos logrando que tengan propiedades muy parecidas a las del hueso esponjoso humano y lograr la formación de una capa de hidroxiapatita en su superficie mediante la inmersión en SBF, éstas son:

- Esfuerzo de compresión: de 2 a 10 MPa.
- Densidad: entre 0.1 y 1 gr/cm<sup>3</sup>.
- Porosidad interconectada: Mayor al 60%.
- Tamaño de poro: 100-500 μm.

## **II. REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA**

### **II.1 Los biomateriales**

#### **II.1.1 *Definición de biomaterial***

Los biomateriales se pueden definir como materiales biológicos comunes tales como piel, madera, o cualquier elemento que reemplace la función de los tejidos o de los órganos vivos. En otros términos, un biomaterial es un material no viable usado en un dispositivo medico, destinado a interactuar con sistemas biológicos. [8]

Los biomateriales se implantan con el objeto de reemplazar y/o restaurar tejidos vivientes y sus funciones, lo que implica que estén expuestos de modo temporal o permanente a fluidos del cuerpo, aunque en realidad pueden estar localizados fuera del propio cuerpo, incluyéndose en esta categoría, la mayor parte de los materiales dentales que tradicionalmente han sido tratados por separado.

Debido a que los biomateriales restauran funciones de tejidos vivos y órganos en el cuerpo, es esencial entender las relaciones existentes entre las propiedades funcionales y estructurales de los materiales biológicos. Los dispositivos como miembros artificiales, amplificadores de sonido para el oído y prótesis faciales externas, no son considerados como implantes. [9]

Los requisitos que debe cumplir un biomaterial son:

- Ser biocompatible, es decir, debe ser aceptado por el organismo, no provocar que éste desarrolle sistemas de rechazo ante la presencia del biomaterial.
- No ser tóxico, ni carcinógeno.
- Ser químicamente estable (no presentar degradación con el tiempo).
- Tener una resistencia mecánica adecuada.
- Tener un tiempo de fatiga adecuado.
- Tener densidad y peso adecuados.
- Tener un diseño de ingeniería perfecto; esto es, el tamaño y la forma del implante deben ser los adecuados.

- Ser relativamente barato, reproducible y fácil de fabricar y procesar para su producción en gran escala. [9]

### **II.1.2 Generalidades de los biomateriales**

Dentro de la ciencia de los biomateriales la rama de los biomateriales es una de las que ha despertado mayor interés para su investigación básica y su desarrollo tecnológico. La ciencia de los biomateriales se considera como uno de los prototipos más característicos de campos de investigación y desarrollo totalmente interdisciplinario, cuyo crecimiento más espectacular se ha producido predominantemente durante las dos últimas décadas. [10]

El área de biomateriales ocupa una posición especial entre la Medicina, Biología, Física, Química e Ingeniería, de tal forma que desde un punto de vista académico se considera a la Biotecnología y la Bioingeniería como dos disciplinas estrechamente interconectadas. [11]

Quizá uno de los principales incentivos del desarrollo de la Ciencia de Biomateriales ha sido la imperiosa necesidad de encontrar, desarrollar y utilizar materiales biocompatibles, es decir, aquellos que induzcan una respuesta apropiada con el medio fisiológico. [12]

Los biomateriales pueden ser naturales o sintéticos. Los naturales son en general complejos, heterogéneos y difícilmente caracterizables y procesables. [13, 14, 15]

### **II.1.3 Clasificación de los biomateriales**

Los Biomateriales se pueden clasificar de dos maneras diferentes. Por un lado, se pueden considerar en función de la respuesta del organismo, como se muestra en la tabla II.1.

Los materiales inertes presentan la ventaja de ser más resistentes pero no interactúan con el cuerpo, por lo cual no son reconocidos como parte de éste por el sistema inmunológico. Éstos pueden también producir una inflamación de los tejidos cercanos debido a las reacciones que se producen con cuerpo humano. En cambio, los materiales bioactivos tienen una interacción fuerte con el cuerpo mediante su superficie.

**Tabla II. 1** Clasificación de los Biomateriales según su tipo de respuesta.

<b>Tipo de material</b>	<b>Tipo de respuesta</b>
<b>Inertes</b>	Sin respuesta
<b>Bioactivos Interactivos</b>	Respuesta específica prediseñada (crecimiento del tejido, adhesión)
<b>Bioactivos viables</b>	Respuesta como tejido normal (absorción y/o remodelación)
<b>Bioreabsorbibles</b>	Respuesta positiva, interacción con el tejido y degradación química con el tiempo

Los materiales bioreabsorbibles presentan la propiedad de degradarse químicamente, absorbiéndose de forma controlada y siendo reemplazados por el tejido nuevo. [16]

Por otro lado, se puede considerar la naturaleza de los materiales mismos, en función de su estructura (metálicos, cerámicos, polímeros, vidrios y compósitos) como se presenta en la tabla II.2.

**Tabla II. 2** Clasificación de los Biomateriales en función de su estructura.

<b>Tipo de material</b>	<b>Características</b>
<b>Metales</b>	Átomos unidos por enlaces metálicos.
<b>Polímeros</b>	Moléculas unidas en cadenas largas.
<b>Cerámicos</b>	Compuestos inorgánicos unidos por enlaces iónicos y covalentes
<b>Vidrios</b>	Cerámicos de estructura amorfa
<b>Compósitos</b>	Mezclas de los tipos anteriores

### II.1.4 Los biomateriales cerámicos y sus aplicaciones biomédicas

Las cerámicas son sólidos inorgánicos cristalinos o amorfos como los vidrios, de densidad generalmente más baja que la de los metales y más alta que la de los polímeros.

Presentan también un alto punto de fusión, una dureza alta, una resistencia mecánica más alta frente a compresión que a tensión y una fragilidad elevada debida a la fácil propagación de defectos en su estructura. La Figura 2.1 muestra las posibles aplicaciones de los biomateriales cerámicos. [17]

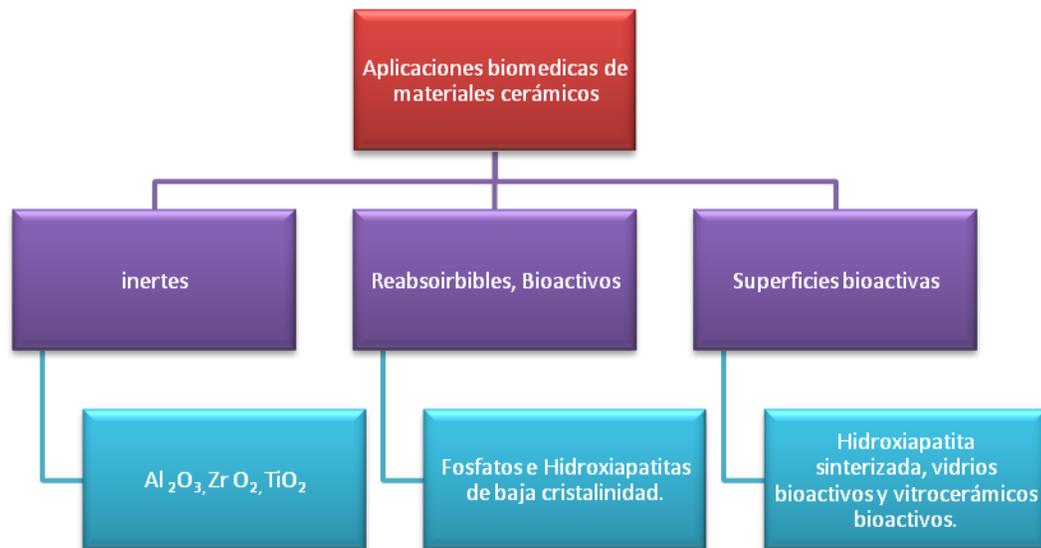


Fig 2. 1 Aplicaciones biomédicas de los materiales cerámicos. [16]

### II.2 Composición de los tejidos duros del cuerpo humano

Los tejidos duros del ser humano, huesos y dientes, están constituidos por un compuesto a base de fosfato de calcio, de estructura y composición muy similar al mineral denominado Hidroxiapatita (HA) y una matriz orgánica de diversos colágenos principalmente el colágeno tipo I y células óseas. Los huesos humanos (cortical y esponjoso) están constituidos por microcristales de HA en un 60-80% en forma de fibras hexagonales de dimensiones variables y una matriz proteica de colágeno embebido en agua. El armazón del hueso vivo está

formándose continuamente y deshaciéndose por acción de las células óseas (osteoblastos-osteoclastos). Los osteoblastos van formando hueso nuevo mientras los osteoclastos van disolviendo el hueso [18].

Una característica relevante del hueso es su capacidad regenerativa, sin embargo, en muchos casos debido a las dimensiones del daño se hace necesario el uso de materiales adecuados para reconstruir la parte afectada; es por eso que en la cirugía ortopédica y maxilofacial es necesario realizar resecciones masivas de tejido óseo debido principalmente a infecciones, tumores, traumas, etc., Esto conlleva irremediablemente a dejar cavidades óseas extensas debilitadas debido a la pérdida del hueso. Estas cavidades ocasionan complicaciones tales como la aparición de fracturas patológicas, osteoporosis, reactivaciones de infecciones óseas, entre otras. Para evitar estas complicaciones se recurre a la colocación de injertos óseos. Los injertos son parte de tejidos frescos, extraídos de algún paciente o donador. El uso del autoinjerto tiene las limitaciones propias del paciente, ya que muchas veces no se puede extraer una gran cantidad debido a consecuencias de una doble lesión, por lo tanto, no es suficiente para rellenar cavidades extensas, aunque éste es el mejor injerto o implante. Otra alternativa es utilizar aloinjertos, para ello, se realizan pruebas de compatibilidad, con la finalidad de corroborar, si el tejido es apto para la persona receptora, así como pruebas de algunas enfermedades que se puedan transmitir por el injerto. Por último, están los xenoinjertos estos son aún más difíciles y complicados de colocar, toda vez, que han sido aceptados por el huésped receptor; ya que provienen de otras especies de animales diferentes al humano.

La HA es conductora y bioactiva, esto quiere decir que sirve como base para el crecimiento óseo y se une químicamente al tejido vivo, pero las células que se unen al material pueden permanecer en ella sin llevar a cabo una división o crecimiento.

### **II.3 Las funciones del tejido óseo**

- **Sostén:** Permite sostener los tejidos blandos. [18-20].
- **Protección:** Protege órganos vitales como los pulmones, el cerebro, la médula, la columna, entre otros, contra las sollicitaciones mecánicas importantes. [17].
- **Movilidad:** Permite el movimiento de los vertebrados gracias a los enlaces que forma el tejido óseo con los músculos [20].

- Homeóstasis mineral: Permite la regulación del metabolismo de ciertos iones ( $\text{Ca}^{2+}$ ,  $\text{Na}^+$ ,  $\text{H}^+$ ,  $\text{Mg}^{2+}$ ,  $\text{P}^{5+}$ ) [21].
- Hematopoyesis: Produce las células sanguíneas [21].

## **II.4 El hueso como tejido**

El hueso es un tejido vivo y tiene capacidad para remodelarse. El hueso es capaz de reconstruirse después de haber sufrido un esfuerzo mecánico o una deficiencia biológica que resulta en la formación de un defecto. Sin embargo, cuando el defecto creado por tales causantes es demasiado grande, el hueso se ve incapaz de autoregenerar su estructura [17, 18].

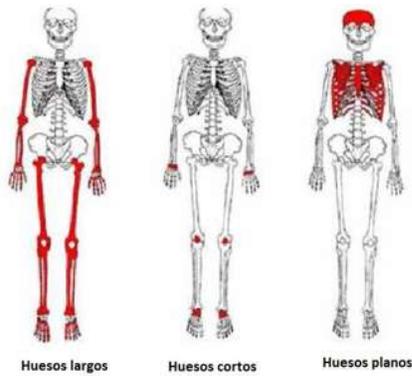
Debido a la imposibilidad del hueso para auto repararse cuando los defectos son grandes, la comunidad científica probó incorporar injertos óseos en el defecto, los cuales pueden ser estables o bioactivos [22].

El hueso constituye uno de los tejidos más duros del cuerpo humano junto con la dentina. Desde un punto de vista estructural, está organizado a varios niveles de tal manera que lo podemos considerar como un nano-compuesto con propiedades biológicas y biomecánicas muy peculiares que han sido imprescindibles para el desarrollo de los vertebrados y, más precisamente, del ser humano [19].

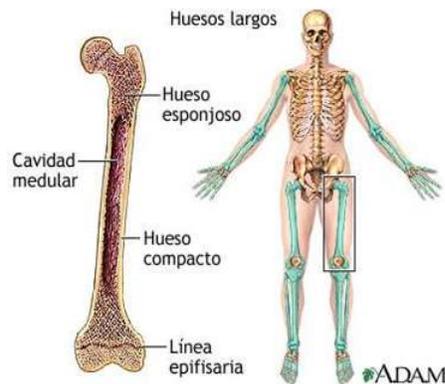
### **II.4.1 Los tipos de hueso**

En el cuerpo humano se pueden distinguir diferentes tipos de hueso, según sus densidades, formas y propiedades mecánicas. En la Figura 2.2 se observa una de las clasificaciones, según su forma en largos, cortos y planos [23].

También se puede distinguir entre dos tipos de hueso. El primer tipo, es el hueso compacto o cortical que constituye la diáfisis, es decir, la parte alargada de los huesos largos entre las epífisis. Esta es la parte más densa del hueso y presenta una microporosidad baja. El segundo tipo, es el hueso esponjoso o trabecular, que compone las epífisis, o sea, las partes extremas del hueso largo. El hueso trabecular constituye la parte menos densa del hueso ya que tiene una macroporosidad alta. En la Figura 2.3 se muestran las partes del hueso que se han indicado.



**Fig 2. 2** Tipos de huesos dependiendo de su forma [23].



**Fig 2. 3** Tipo de hueso dependiendo de su densidad.

En el ámbito macroscópico, el hueso tiene una apariencia razonablemente densa (hueso duro o cortical), el cual constituye la mayor parte estructural de los huesos largos tales como el fémur, la tibia, etc. y también se encuentra en la forma conocida como hueso trabecular o esponjoso, que es mas poroso y es encontrado en las costillas, pelvis y extremos de los huesos largos. [24]

La razón principal por la cual no se usan los huesos como implantes esta en el hecho de que no siempre está disponible la cantidad necesaria de hueso natural para realizar el implante. [25]

#### **II.4.2 Organización del tejido óseo y la matriz extracelular**

El hueso es un material organizado a varios niveles y tiene una fase orgánica y otra inorgánica, además, las dimensiones de uno de sus niveles son nanométricas, con lo cual se puede considerar que es un material nano compuesto [18].

La parte inorgánica se compone casi totalmente de hidroxapatita, la cual se dispone en forma de unas laminillas de tamaño nanométrico. Entre dichas laminillas se ubican las lagunas con los osteocitos. El conjunto laguna-osteocito se llama osteoplasto, y desde cada osteoplasto se irradian canalículos (conductos muy delgados) ramificados que los comunican y además permiten la nutrición de los osteocitos. Esta comunicación es esencial para la supervivencia de los osteocitos, ya que éstos se encuentran rodeados de matriz mineralizada que no les difunde nutrientes. La Figura 2.4 presenta la organización del tejido óseo.

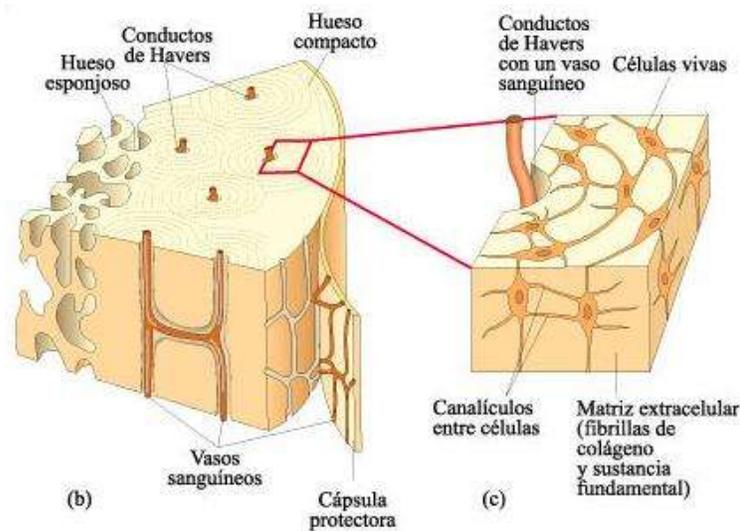


Fig 2. 4 Estructura interna del hueso. [18]

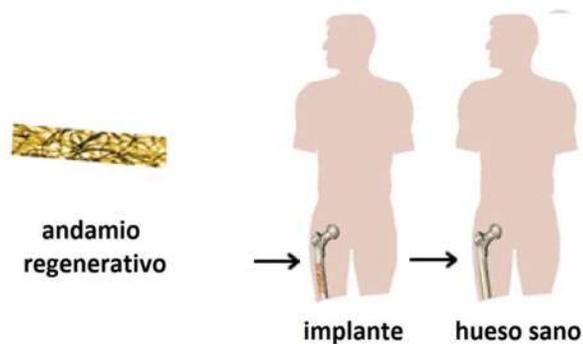
## II.5 La ingeniería de tejidos

La ingeniería de tejidos ha sido definida como la aplicación de los principios científicos para el diseño, construcción, modificación y crecimiento de los tejidos vivos utilizando biomateriales, células y factores, solos o combinados. Representa un nuevo e interdisciplinario campo que aplica un conjunto de métodos, materiales de ingeniería y ciencias de la vida para crear construcciones para regeneración de tejido nuevo. [26]

La ingeniería de tejidos, aplica métodos de la ingeniería y de las ciencias de la vida para crear elementos artificiales que dirijan la regeneración del tejido, esta área ha atraído a numerosos

científicos y cirujanos con la esperanza de tratar pacientes de una manera mínimamente invasiva y menos dolorosa. El paradigma de la ingeniería de tejidos consiste en aislar células específicas a través de una pequeña biopsia del paciente, para hacerlas crecer en un andamio tridimensional bajo condiciones de cultivo controladas apropiadamente, a fin de trasplantar este conjunto a la zona deseada del cuerpo del paciente, y para dirigir la formación del nuevo tejido dentro del andamio que puede ir degradándose a través del tiempo. [27]

Lo anterior es mostrado en la Figura 2.6.



**Fig 2. 5** Estrategia de ingeniería de tejidos. [27]

El campo emergente de la ingeniería de tejidos ofrece nuevas posibilidades de tratamientos que podrían mejorar la cura del tejido dañado sin las limitaciones e inconvenientes de los tratamientos actuales. El propósito de la ingeniería de tejidos es el de restituir la estructura y función de un defecto por medio del uso de la respuesta natural de cura del cuerpo humano, conjuntamente con un tratamiento que utilice uno o más de los siguientes tres elementos: células, moléculas de señalización y andamios. Entonces, un defecto óseo puede ser reemplazado potencialmente por tejido óseo natural con una unión y restauración de la función completa, sin el uso de implantes permanentes. [28]

### **II.5.1 Estrategias de la ingeniería de tejido óseo**

La ingeniería de tejidos busca combinar la tecnología de la ingeniería con los principios de las ciencias biológicas para desarrollar nuevas estrategias para la reparación y regeneración del tejido perdido o dañado. Sus estrategias se pueden dividir en tres categorías: [29]

- 1- Basada en células.
- 2- Basada en factores de crecimiento.
- 3- Basada en matrices.

En la práctica, la mayor parte de los trabajos experimentales implementan más de una de estas estrategias juntas. Por ejemplo, un andamio biodegradable puede estar diseñado para transportar células a un defecto mientras libera factores de crecimiento al tejido circundante a medida que se degrada. [30]

En el campo de la ingeniería de tejidos, estas estrategias requieren la interacción entre elementos ontogénicos, osteoinductivos y osteoconductivos. Por ejemplo, un andamio osteoconductor puede dar soporte mecánico, permitir que las células se adhieran, facilitar la vascularización y actuar como vehículo para las células y los factores de crecimiento.

Para lograr un tratamiento efectivo en la regeneración del tejido óseo, un dispositivo diseñado dentro del campo de la ingeniería de tejidos deberá cumplir con los siguientes requerimientos.

- 1- Proveer de resistencia mecánica de manera temporal en el área afectada.
- 2- Actuar como un sustrato para la deposición y crecimiento de los osteoides.
- 3- Poseer una estructura porosa que permita la vascularización y el crecimiento óseo.
- 4- Fomentar la migración de células reparadoras del hueso a la zona del defecto y estimular su actividad para la regeneración y reparación.
- 5- Degradarse de manera controlada para facilitar la transferencia de la solicitación mecánica al hueso en formación y para permitir su crecimiento dentro del defecto.
- 6- Degradarse liberando productos no tóxicos que puedan ser eliminados por el cuerpo.
- 7- No causar una respuesta inflamatoria significativa.
- 8- Ser esterilizable sin perder su cualidad de bioactivo. [31]

### **II.5.2 Andamios para ingeniería de tejidos**

Las estrategias de la ingeniería de tejidos óseos que están basadas en factores de crecimiento y en células, proveen del componente osteogénico y osteoinductivo para un potencial tratamiento de daños severos del hueso o pérdida del mismo. En ambos casos, un andamio

preparado a partir de un biomaterial es esencial para llenar el defecto y para actuar como transportador de las células y/o de los factores de crecimiento utilizados en la reparación del defecto.

Adicionalmente, el andamio debe proveer de soporte mecánico temporal, tener osteoconductividad, una arquitectura porosa, una capacidad de degradación controlada, biocompatibilidad por sí mismo y de los productos que libera durante su degradación, y debe poder ser esterilizado. [32]

### **Requerimientos en el diseño**

Las propiedades mecánicas de un andamio deben adecuarse a aquellas del tejido que se busca reparar o regenerar para proveer una estabilidad estructural en el lugar del daño. El biomaterial elegido debe ser lo suficientemente fuerte para soportar la carga fisiológica del cuerpo sin absorber el estímulo mecánico requerido para el crecimiento natural en el área afectada. También es imprescindible que el biomaterial permita una transferencia gradual de carga para permitir una reparación correcta del tejido.

Para ello, se requiere de una estructura porosa que permita el crecimiento del hueso y la vascularización a través del andamio. Idealmente, un andamio debe estar diseñado para maximizar la porosidad manteniendo unas propiedades mecánicas suficientes, y poseer poros interconectados en el rango de tamaños de 50-700  $\mu\text{m}$ . [33]

Este tipo de estructura debe proveer una elevada área superficial para la adhesión, crecimiento y desarrollo de la función de las células, y al mismo tiempo, espacios vacíos de un tamaño suficiente para permitir la formación del hueso y la vascularización. Un biomaterial que pueda ser formado por inyección ofrece la ventaja adicional de la fabricación de implantes de formas irregulares mediante el uso de moldes o de su inyección directa en un defecto. [33]

Los cerámicos porosos son producidos mediante la adición de una segunda fase que se descompone antes de llevar a cabo la densificación, dejando atrás cavidades o poros. [34] o mediante la transformación de organismos naturales porosos, coral a hidroxiapatita por procesado hidrotérmico. [35]

El andamio tampoco deberá producir una respuesta inflamatoria significativa que pueda resultar en la formación de una cápsula fibrosa alrededor del implante, de lo contrario este se

vuelve inefectivo. Una respuesta tóxica del tejido circundante al biomaterial causaría la muerte celular y agravaría el daño.

Finalmente, el biomaterial del andamio debe ser esterilizable sin que éste pierda su funcionalidad, es decir, el proceso de esterilización no debe alterar la composición química del material, ya que esto podría afectar su bioactividad, biocompatibilidad y sus propiedades de degradación. [33]

## **II.6 Clasificación de los sustitutos óseos**

La clasificación de los materiales utilizados como sustitutos óseos dada por biólogos y cirujanos es muy distinta a aquella utilizada por los científicos de materiales y está basada en la relación existente entre el hueso y el material después de ser implantado.

**Los materiales osteoconductivos** son diseñados para proveer de un medio de guía al crecimiento del hueso. El hueso está en contacto con el material sin ninguna interposición de células o tejidos. Su valor depende de la capacidad del lugar del implante de proveer un tejido reparador que contenga osteoblastos o células madres pre-diferenciadas de los osteoblastos para su posterior colonización. [36]

**Los materiales osteoinductivos** actúan en la diferenciación de las células que se encuentran próximas. Ellos, son capaces de inducir una evolución de células multipotenciales. De manera sencilla, estos tipos de materiales son capaces de inducir la formación de hueso y por tanto participan en este proceso de manera activa. [36]

## **II.7 Vidrios bioactivos y su relación con el sistema óseo**

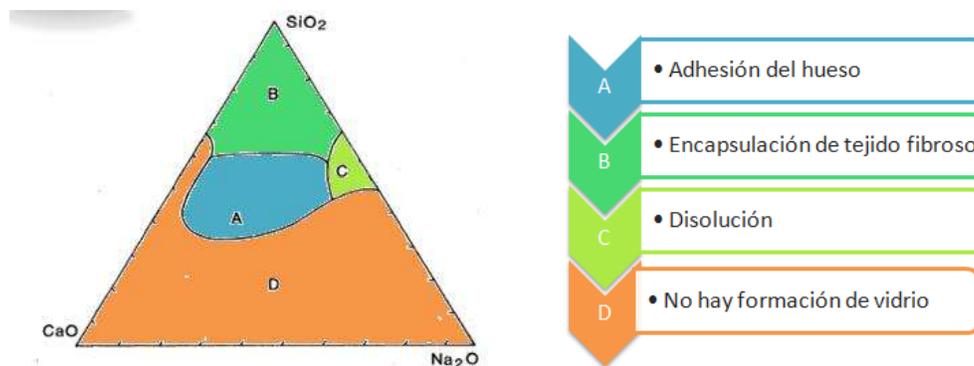
Ciertas composiciones de vidrios, cerámicos, vidrios cerámicos y compuestos han demostrado la capacidad de unión con el tejido óseo. [37, 38, 39] Estos materiales se les conocen como cerámicos bioactivos.

En 1971 Hench *et al.* [40] descubrieron que ciertas composiciones de vidrios se enlazan al hueso. Desde dicho descubrimiento, se han llevado a cabo muchos estudios con propuestas para su uso como implantes para la reconstrucción ósea. Se han establecido requisitos de composición en cuanto a la bioactividad de los vidrios del sistema  $\text{Na}_2\text{O}-\text{K}_2\text{O}-\text{CaO}-\text{MgO}-\text{B}_2\text{O}_3-\text{P}_2\text{O}_5-\text{SiO}_2$  sintetizados por fusión. Los requisitos son: menos del 59% mol de  $\text{SiO}_2$ , entre el 14% y el 30% mol de óxidos alcalinos ( $\text{Na}_2\text{O} + \text{K}_2\text{O}$ ) y entre el 14% y el 30 % mol de

óxidos alcalinotérreos (CaO + MgO). Los vidrios descubiertos por Hench *et al*, además de ser bioactivos mostraron tener una alta reabsorción en el cuerpo [41]. La principal desventaja que tienen, es que sus propiedades mecánicas son bastante bajas.

Los vidrios bioactivos son amorfos, compuestos de silicatos que se unen a los huesos y estimulan el crecimiento de hueso nuevo, mientras se van disolviendo con el tiempo.

La dependencia composicional de la unión ósea de los vidrios de composición  $\text{Na}_2\text{O}-\text{CaO}-\text{P}_2\text{O}_5-\text{SiO}_2$  se ilustra en la Figura 2.6. Todos estos vidrios contienen 6 % en peso de  $\text{P}_2\text{O}_5$ . Las composiciones en el centro del diagrama (región A) forman una unión con el hueso. Consecuentemente, la región A, es llamada el límite bioactivo de unión ósea. Los vidrios a base de silicatos están dentro de la región B (vidrios de ventanas, botellas, portaobjetos de microscopios) se comportan de una manera casi inerte y provocan un encapsulamiento del tejido fibroso en la interface implante-tejido. Los vidrios dentro de la región C son reabsorbibles y desaparecen en el rango de 10-30 días después del implante. Los vidrios dentro de la región D no son teóricamente prácticos y por lo tanto no han sido analizados como implantes. El vidrio bioactivo tipo 45S5 se encuentra dentro de la región A debido a que forma una unión con el hueso.



**Fig 2. 6** Clasificación de los vidrios dependiendo su composición en el diagrama ternario  $\text{SiO}_2-\text{Na}_2\text{O}-\text{CaO}$ . [41]

Los materiales candidatos para ser vidrios bioactivos son:

- 45S5 Bioglass® (46.1% SiO<sub>2</sub>, 24.4% NaO, 26.9% de CaO, 2.6% de P<sub>2</sub>O<sub>5</sub>, en% mol), que fue el primer material descubierto para formar un enlace interfacial con tejidos del huésped; éste se implantó en ratas por Hench *et al.* en 1971. [40]
- Perioglas®, que se utiliza para llenar defectos periodontales. [42]
- NovaBone® (NovaBone Corp., Alachua, Florida), que se utiliza en aplicaciones ortopédicas. [42]
- Hay dos maneras de producir vidrio bioactivo: la tradicional fusión y temple y el proceso sol-gel.

Los implantes de Bioglass® también se han utilizado en el remplazo de partes del hueso dañado del oído medio, restaurando la audición a los pacientes. [43]

El interés de los vidrios bioactivos ha sido expandido desde su descubrimiento inicial y ahora no sólo se centra en la unión del hueso, sino también en su potencial osteogénico y sus aplicaciones en ingeniería de tejidos.

### **II.7.1 Evaluación de la bioactividad**

Los materiales bioactivos presentan una característica común en la interface con el hueso después de su integración. [44] Por ejemplo, el vidrio bioactivo 45S5 revela una capa de apatita en la interface que es mediadora de la integración con el hueso.

Evaluaciones histológicas *in vivo* muestran que esta capa de apatita se forma en la superficie de estos materiales en una etapa temprana del periodo de inmersión, y que más tarde la matriz ósea se integra a esta apatita. Esta capa de apatita consiste en cristales nanométricos de una apatita que contiene iones de carbono, una estructura defectuosa y baja cristalinidad. [45] Estas características son similares a las de la fase mineral del hueso y, entonces, las células encargadas de la regeneración del hueso, pueden proliferar en la apatita y diferenciarse para formar una matriz extracelular compuesta por apatita biológica y colágeno. Como resultado, el hueso circundante se encuentra en contacto directo con la superficie de la capa de apatita. Cuando este proceso ocurre, se crea un enlace químico entre el hueso mineral y la superficie de apatita para disminuir la energía interfacial existente entre ambas.

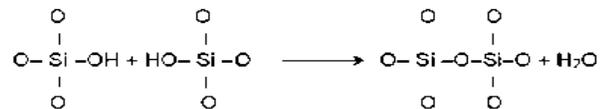
Algunos materiales artificiales que son implantados en defectos óseos son aislados por medio de una capsula fibrosa, y por tanto, no pueden estar en contacto con el hueso.

Después de que se demostró que algunos vidrios bioactivos crean espontáneamente enlaces con el hueso sin formar capsula fibrosa [45], surgió el concepto de bioactividad y numerosos tipos de materiales han sido estudiados buscando determinar sus propiedades bioactivas.

La realización directa de estudios *in vivo* en animales con este fin resulta una práctica muy costosa, además que supone el sacrificio de muchos animales. Por este motivo, se requieren métodos de evaluación de la bioactividad *in vitro*, que brinden información preliminar, evitando el sacrificio innecesario de animales.

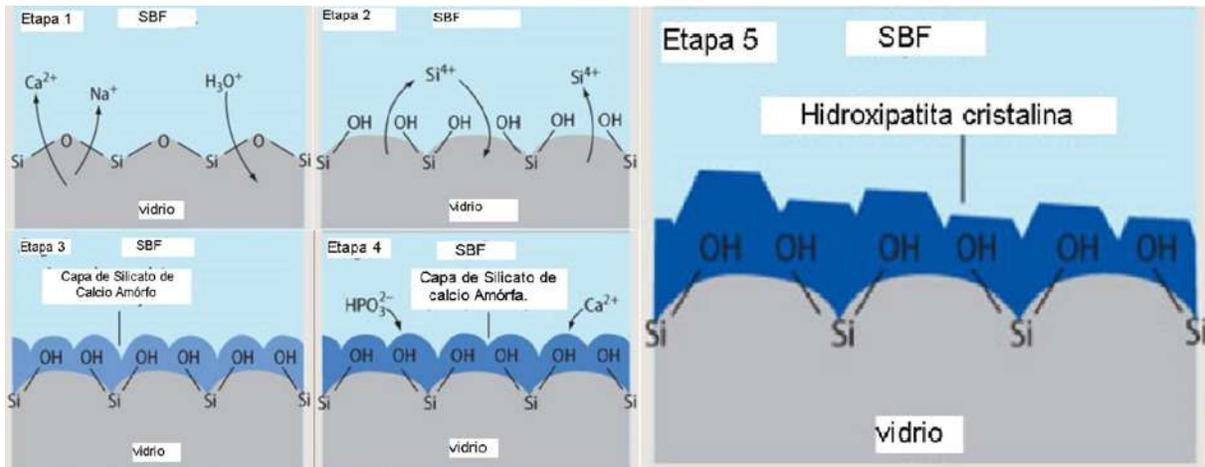
El proceso de formación de la capa apática está formado por 4 etapas mostradas en la Figura 2.7 y descritas a continuación.

- **Etapa 1:** Lixiviado y formación de silanoles (SiOH). Rápido intercambio de  $\text{Na}^+$  o  $\text{K}^+$  con  $\text{H}_3\text{O}^+$ .  $\text{Si-O-Na}^+ + \text{H}^+ + \text{OH}^- = \text{Si-OH} + \text{Na}^+$  (solución) +  $\text{OH}^-$
- **Etapa 2:** Pérdida de silica soluble y formación de silanoles. Se rompe la cadena Si-O-Si-O-Si y pierde silica soluble en forma de  $\text{Si}(\text{OH})_4$ .  
 $\text{Si-O-Si} + \text{H}_2\text{O} = \text{Si-OH} + \text{OH-Si}$
- **Etapa 3:** Policondensación de  $\text{Si}(\text{OH})_4$  para formar una capa de gel de silica hidratada. La capa con pocos cationes alcalinos y alcalinotérreos se condensa y repolimera de  $\text{SiO}_2$



- **Etapa 4:** Formación de la capa de Fosfato de calcio amorfo. Migración de Ca y PO en grupos, a través de la capa rica en SiO, formando  $\text{Ca-P}_2\text{O}_5$  en la parte superior de la capa de SiO, esto es debido a la incorporación de calcio soluble y fosfatos provenientes de la solución.

- **Etapa 5:** Cristalización de la capa de Hidroxiapatita. Se incorporan aniones de OH,  $\text{CO}_3^{2-}$  o aniones de  $\text{F}^-$  provenientes de la solución para cristalizar la capa amorfa de  $\text{Ca}_5(\text{PO}_4)_3\text{OH}$  y formar la Hidroxiapatita.  $\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2$



**Fig 2. 7** Proceso de formación de la capa apática. Adaptado [46]

### II.7.2 Simulated Body Fluid (SBF) [45]

En el año 1991, Kokubo propuso que el requisito principal para que un material artificial pudiera crear un enlace directo con el hueso, era la formación de una capa de apatita similar a la del hueso en su superficie, después de ser implantado en un ser vivo. Según Kokubo, esta formación puede ser reproducida en un fluido corporal simulado que contiene concentraciones de iones casi iguales a las del plasma sanguíneo humano [45] en una solución tampón de TRIS (tri-hidroximetil-aminometano, es una solución buffer biológica sensible al pH de cualquier tipo de fuente durante un proceso biológico). El estudio de Kokubo fue muy relevante ya que significaba que la bioactividad de un material podía ser prevista por medio de la formación de apatita en su superficie cuando éste se sumergía en SBF. Desde entonces, la bioactividad de muchos tipos de materiales ha sido evaluada por inmersión en fluido corporal simulado (SBF). En la tabla II.3 se muestran los componentes y proporciones del SBF.

Se ha demostrado que para varios tipos de materiales, la formación de apatita en la superficie del material al ser sumergido en SBF, presenta una buena correlación con su comportamiento bioactivo en estudios realizados *in vivo* [45].

**Tabla II. 3** Reactivos y cantidades que conforman la Solución SBF. mM (=mmol/dm<sup>3</sup>).

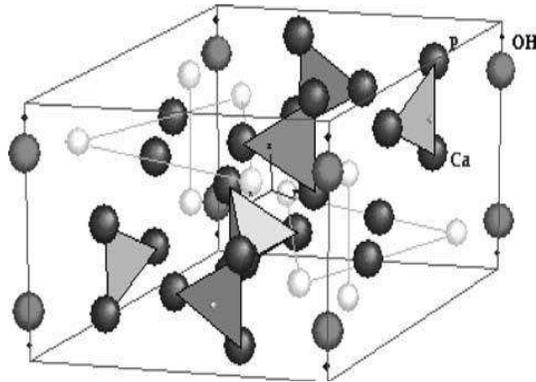
Reactivo	Cantidad (gr)	Ion	Fluido corporal simulado (SBF) (mM)	Sangre humana (mM)
NaCl	8.036	Na <sup>+</sup>	142	142
NaHCO <sub>3</sub>	0.352	K <sup>+</sup>	5	5
KCl	0.225	Mg <sup>2+</sup>	1.5	1.5
K <sub>2</sub> HPO <sub>4</sub> ·3H <sub>2</sub> O	0.23	Ca <sup>2+</sup>	2.5	2.5
MgCl <sub>2</sub> ·6H <sub>2</sub> O	0.311	Cl <sup>-</sup>	147.8	103
1.0M HCl	40mL	HCO <sup>3-</sup>	4.2	27
CaCl <sub>2</sub>	0.293	HPO <sub>4</sub> <sup>2-</sup>	1	1
Na <sub>2</sub> SO <sub>4</sub>	0.072	SO <sub>4</sub> <sup>2-</sup>	0.5	0.5
(CH <sub>2</sub> OH)CNH <sub>2</sub>	6.063	pH a 36.5°C	7.4	7.25

## II.8 Hidroxiapatita sintética

La hidroxiapatita sintética (HA) es un fosfato de calcio con una composición química muy similar a la del hueso humano, lo cual la hace biocompatible con los tejidos vivos. La biocompatibilidad posibilita su uso en variadas aplicaciones médicas.

La hidroxiapatita, Ca<sub>10-x</sub> (PO<sub>4</sub>)<sub>x</sub> (HPO<sub>4</sub>)<sub>6-x</sub>(OH)<sub>2-x</sub> con 0<x<1, es el principal componente inorgánico del hueso de los vertebrados; también la encontramos en la dentina y el esmalte dental. Este fosfato de calcio, que se puede obtener de forma sintética, presenta características de biocompatibilidad, no toxicidad, estabilidad química, osteoconducción y bioactividad; tales propiedades hacen al material muy práctico para usos médicos [47]. La HA se puede usar como reemplazo de partes pequeñas de hueso, relleno de cavidades en odontología, recubrimiento de superficies de metales para implantes, refuerzo en materiales compuestos y como liberador de medicamentos, entre otros. Para una aplicación determinada se requieren diferentes características de la HA, como pueden ser su capacidad de reabsorción o

bioactividad. El estudio de la HA se ha realizado desde hace varias décadas. En 1958 se propuso la estructura cristalina de la hidroxiapatita a partir del análisis de un monocristal. Este fosfato cristaliza en el sistema hexagonal, grupo de simetría  $P63/m$ , con valores de red  $a = b = 9.432 \text{ \AA}$  y  $c = 6.88 \text{ \AA}$  (Figura 2.8). La relación ideal Ca/P es 10:6 (1.6667), su densidad calculada es de  $3.219 \text{ g/cm}^3$  y sus propiedades mecánicas varían de acuerdo con el proceso de manufactura; la HA policristalina tiene un módulo elástico alto, 40-117 GPa. [47]



**Fig 2. 8** Estructura cristalina de la hidroxiapatita sintética. [47]

Una HA apropiada para cualquier aplicación específica debe controlar su composición, las impurezas, morfología, cristalinidad, tamaño del cristal y de las partículas. Las variaciones pequeñas en las anteriores características ocasionan diferentes comportamientos del material implantado, tanto en su bioactividad y rango de disolución como en su reabsorción. [48]

## **II.9 Métodos para sintetizar cerámicos porosos**

Hasta el día de hoy existen tres métodos principales para fabricar cerámicos porosos, de los cuales hay subdivisiones a su vez. Los tres métodos se describen a continuación. [6]

### **II.9.1 Método de la réplica**

La técnica de la réplica es considerada como el primer método usado para la fabricación de cerámicos macroporosos. La invención original data de principios de los 60's, cuando Schwartzwalder y Somers [49] comenzaron a utilizar esponjas poliméricas como moldes para

preparar estructuras celulares de diferentes tamaños de poro, tipos de porosidades y composiciones químicas.

Desde entonces la técnica de la réplica con esponja se ha convertido en el método más popular para la producción de cerámicos macroporosos y en la actualidad es extensivamente usado en la industria para la fabricación de filtros que son usados para el proceso del filtrado de metal líquido y otras aplicaciones. El éxito de esta técnica radica en su simplicidad y flexibilidad para producir cerámicos celulares. En la técnica de la réplica polimérica, una esponja polimérica altamente porosa (poliuretano típicamente) es inicialmente sumergida en una suspensión cerámica hasta que los poros internos se llenan con el material cerámico. Después, la esponja impregnada se pasa a través de rodillos con la finalidad de remover el exceso de la suspensión y permitir la formación de una capa cerámica fina sobre las paredes de la estructura celular original. En este paso, la mezcla tiene que ser lo suficientemente fluida para poder ser parcialmente removida cuando los rodillos son utilizados, aunque el cerámico remanente que recubre la estructura deberá ser lo suficientemente viscoso para evitar goteo de la suspensión. El molde polimérico recubierto con el cerámico es subsecuentemente secado y pirolizado con cuidado a temperaturas entre 300 y 800 °C. Velocidades de calentamiento menores a 1 °C/min son usualmente requeridas en este paso para promover la descomposición gradual y la difusión del material polimérico y así evitar la acumulación de presión dentro de las paredes de la estructura [50]. Ligantes y plastizantes son usualmente adheridos en la suspensión inicial con la finalidad de proveer al recubrimiento cerámico resistencia suficiente para prevenir fracturas de las paredes durante la pirolisis. Los ligantes típicos que son usados son: ortofosfato de aluminio coloidal, silicato de potasio y sodio, ortoborato de magnesio, alúmina hidratable, sílice coloidal, entre otros. Una vez removido el molde polimérico, la capa cerámica es finalmente densificada por sinterización bajo una atmósfera apropiada en un rango de temperaturas de 1100 a 1700 °C, dependiendo del material. Cerámicos macroporosos de diferentes composiciones químicas han sido preparadas mediante la técnica de réplica con esponja.

Este método se ilustra en la Fig. 2.9.

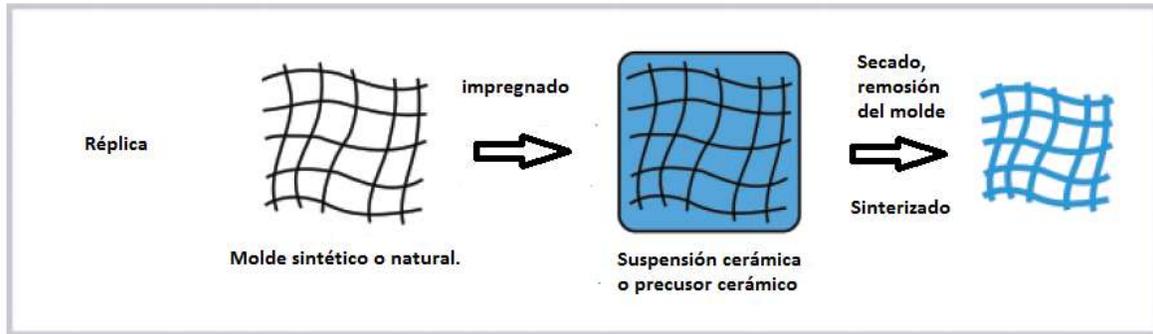


Fig 2. 9 Técnica de la réplica. [6]

### II.9.2 Método del molde de sacrificio

Esta técnica consiste generalmente en la preparación de un compuesto bifásico que comprende una matriz continua de partículas de cerámica o precursores de cerámica y una fase dispersa de sacrificio que, inicialmente, se distribuye homogéneamente por toda la matriz y finalmente es extraída para generar poros dentro de la microestructura, Fig. 2.10. Este método conduce a materiales porosos que muestran una réplica negativa del molde original, contrario a la morfología positiva obtenida a partir de la técnica de réplica que se ha descrito anteriormente.

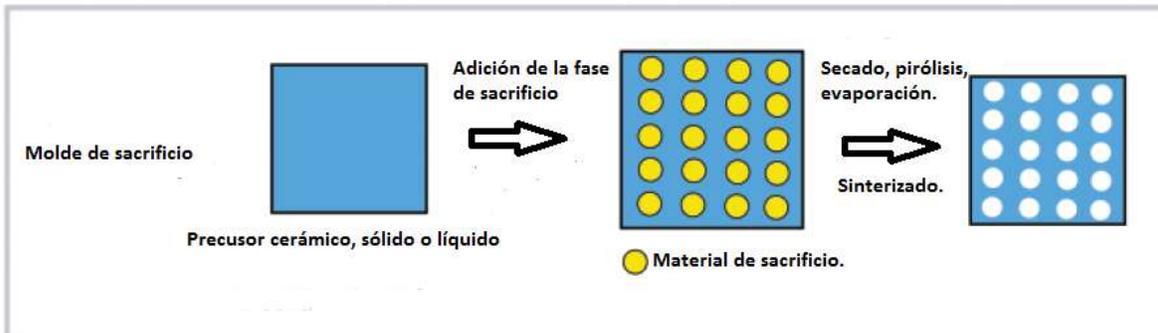


Fig 2. 10 Método del molde de sacrificio. [6]

El compuesto bifásico es comúnmente preparado por: (a) compresión de una mezcla de polvos de los dos componentes, (b) formando una suspensión de dos fases que se procesa posteriormente por rutas húmedas coloidales tales como deslizamiento, cinta o colada directa,

o (c) una impregnación previa de preformas consolidadas del material de sacrificio con un precerámico o suspensión de polímero cerámico.

La forma en que el material de sacrificio se extrae del compuesto consolidado depende principalmente del tipo de formador de poros que se haya empleado. Una amplia variedad de materiales de sacrificio se han utilizado como formadores de poros, incluyendo materias orgánicas, naturales y sintéticas, sales, líquidos, metales, cerámicas y compuestos [6]

### II.9.3 Método del espumado directo

En este método, los materiales porosos se producen mediante la incorporación de aire en una suspensión o un medio líquido, que, posteriormente, se mantiene con el fin de conservar la estructura de burbujas de aire creadas, Fig. 2.11. En la mayoría de los casos, las espumas consolidadas son posteriormente sinterizadas a altas temperaturas para obtener alta resistencia.

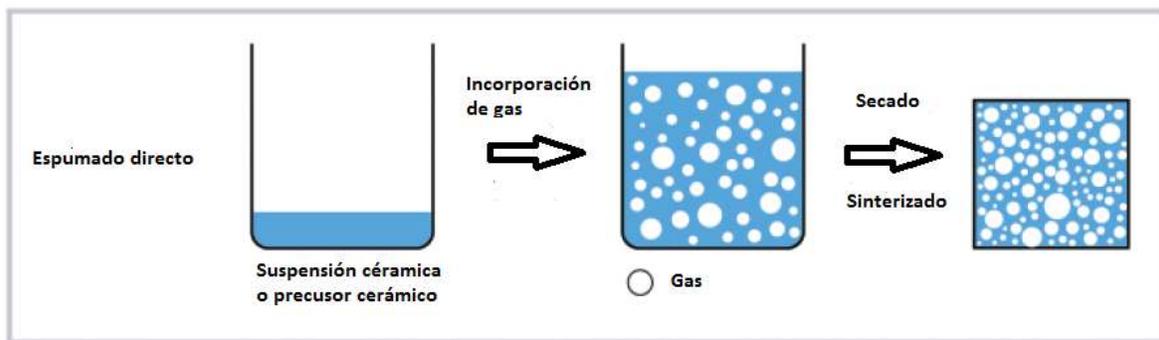


Fig 2. 11 Método del espumado directo. [6]

La porosidad total de la espuma cerámica es directamente proporcional a la cantidad de gas incorporado en la suspensión o medio líquido durante el proceso de formación de espuma. El tamaño de poro, por el contrario, está determinado por la estabilidad de la espuma húmeda antes de que el proceso se lleve a cabo.

Las espumas son sistemas termodinámicamente inestables que se someten a procesos de coalescencia con el fin de disminuir la energía libre de la misma. Los métodos de espumado son fáciles y relativamente baratos. La estabilización de estas espumas es un paso importante

en este método. Las espumas suelen ser estabilizadas con surfactantes para obtener cerámicos porosos y que exhiban un tamaño de poro que va de los 35  $\mu\text{m}$  a 1.2 mm.

Las estructuras porosas fabricadas con este método tienen mayor resistencia mecánica que las hechas con el método de la réplica debido a que éstas carecen de defectos puntuales en su estructura. [6]

#### II.9.4 Método por tecnología de polvos

Desarrollado por Lefevre y Thomas. [51] Este proceso, consiste en la mezcla en seco de los polvos cerámicos o metálicos con un aglutinante polimérico sólido y un agente espumante.

La mezcla es entonces moldeada en la forma deseada y tratada térmicamente en un ciclo de tres periodos como se muestra en la Figura 2.12.

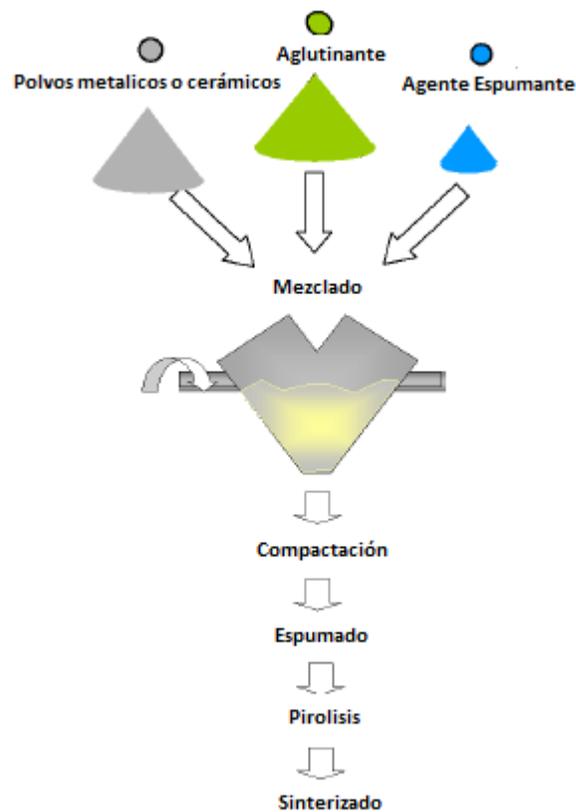
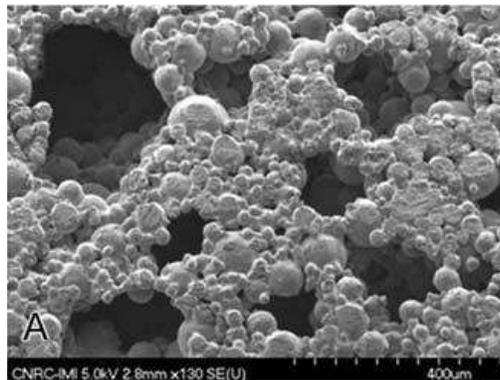


Fig 2. 12 Método por tecnología de polvos. [51]

Durante la primera etapa, que es el espumado, el aglutinante es fundido para crear una suspensión cargada con partículas cerámicas o metálicas. Durante este periodo el agente espumante se descompone y libera un gas que expande la estructura, creando así, porosidad interconectada en la estructura. La segunda etapa que es la de pirólisis, consiste en la descomposición del ligante polimérico a una temperatura intermedia. La tercera etapa, que es la de sinterizado, se realiza para proveer resistencia mecánica a la espuma. La estructura de las espumas puede ser modificada mediante cambios en la formulación o con la variación de las condiciones de espumado y/o sinterizado.

Este proceso ha sido exitosamente utilizado para la obtención de espumas de diferentes materiales como hierro, níquel, titanio y aleaciones Ti-6Al-4V. [52].

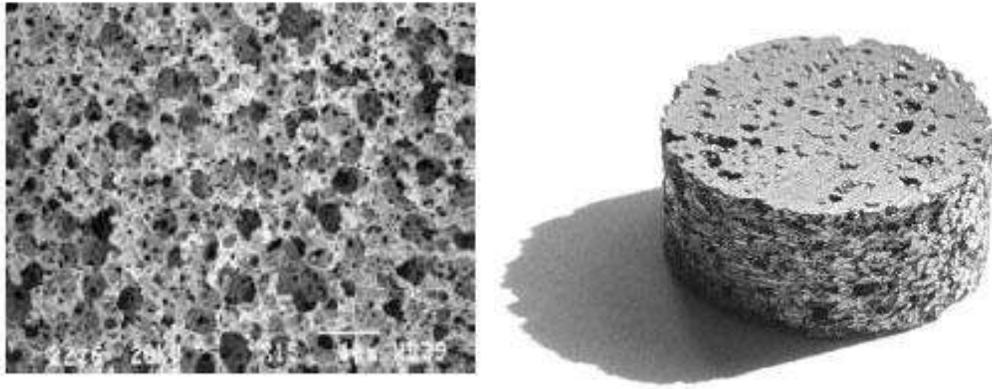
En la Figura 2.13 se puede observar una micrografía de una espuma de titanio con poros de 50 a 400 $\mu$ m.



**Fig 2. 13** Micrografía de espumas de titanio para implantes biomédicos. [52]

## II.10 Antecedentes

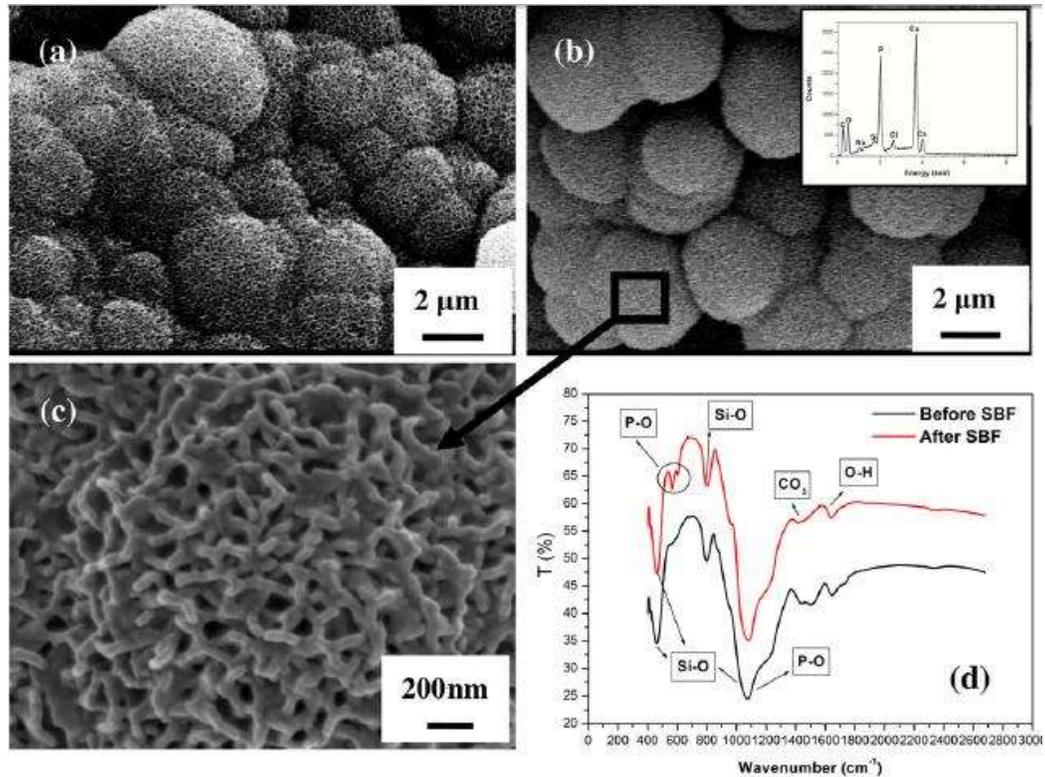
Cheung *et al.* [52] fabricaron las primeras espumas de Ti-6Al-4V por medio del método de tecnología de polvos, sinterizaron las muestras a 1300°C durante 2 h en una atmósfera de Argón. En la Figura 2.14 se puede observar una morfología homogénea y una estructura altamente porosa obtenida por estos autores.



**Fig 2. 14** Morfología de espumas de titanio para implantes biomédicos [52].

Chengtie *et al.* [53] fabricaron espumas por medio de la técnica sol- gel. Obtuvieron polvos de MBG (*Mesoporous bioactive glass*) Si/Ca/P, relación molar de 80/15/5, con un tamaño de partícula menor a 45  $\mu\text{m}$ .

Las probetas obtenidas a partir de los polvos fueron sumergidas en SBF con concentraciones de iones similares a las del plasma sanguíneo humano que prepararon de acuerdo con el método descrito por Kokubo *et al* [45]. Los andamios MBG fueron sumergidos en SBF a 37  $^{\circ}\text{C}$  durante 1 y 3 días, en la proporción de 0.2 g de andamio por 40 mL de SBF. Tres muestras se utilizaron para cada tiempo de inmersión. La Figura 2. 15 muestra las imágenes por MEB de la formación de la capa de hidroxiapatita después de haber sido sumergidas en SBF. Como se puede observar en la Figura 2.15 (a), el tamaño de las esferas fue de aproximadamente 2 $\mu\text{m}$ , pero estas esferas están formadas por partículas nanométricas. En el espectro de infrarrojo también se observaron las bandas características de los enlaces P-O y Si-O, característicos de la hidroxiapatita.

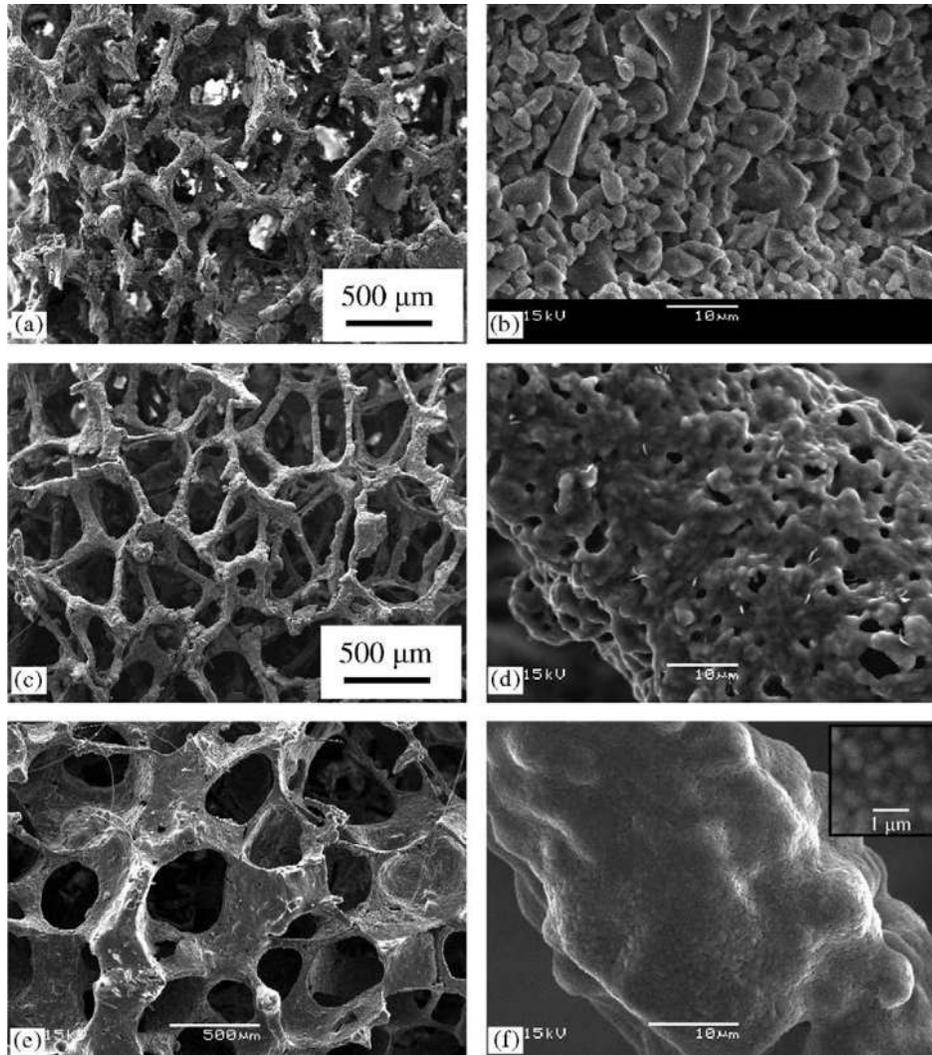


**Fig 2. 15** Evolución de la capa apática en andamios MBG y resultados de infrarrojo. [53]

Qizhi *et al.* [54], investigaron la posibilidad de obtener andamios porosos de biovidrio 45S5, por medio de la técnica de la réplica con una base de poliuretano. Las condiciones de sinterización fueron 900 °C/5 h, 950 °C/0-5 h, y 1000 °C/0-2 h. Las velocidades de calentamiento y enfriamiento fueron 2 y 5 °C/min, respectivamente.

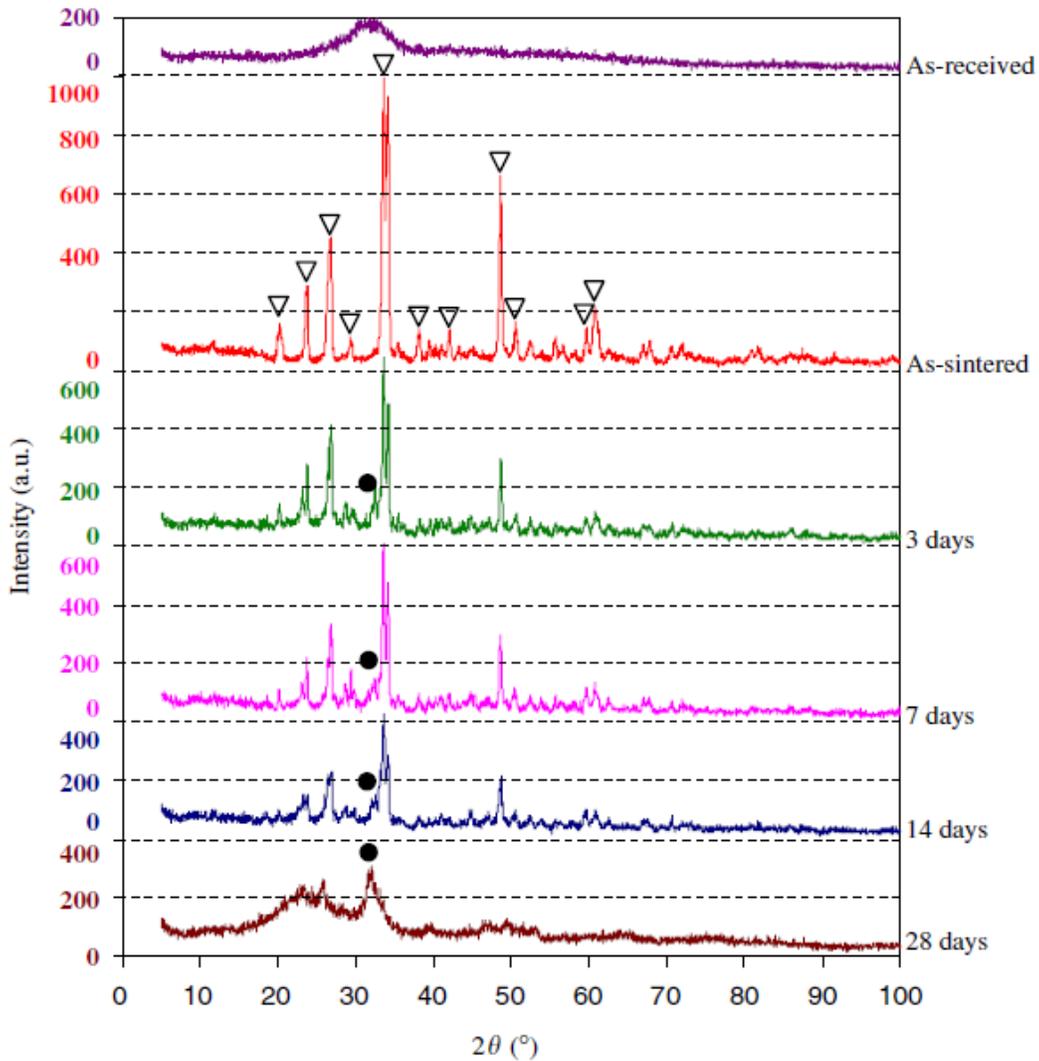
El tamaño de partícula inicial fue de 5 μm aproximadamente, se fabricaron varias muestras tomando en cuenta que se iban a sumergir en SBF, las probetas sumergidas fueron las sinterizadas a 1000 °C durante 30 min.

Se obtuvo una porosidad óptima de aproximadamente, el 90% pero una resistencia muy baja, ésta fue de 0.3 MPa, se reporta un tamaño de poro de 510–720 μm y contracción del 33% después del sinterizado, así como una pequeña cristalización después del tratamiento térmico. Se obtuvo una estructura homogénea como la que se muestra en la Figura 2.16.



**Fig 2. 16** Micrografías de espumas de biovidrio 45S5 sinterizadas a diferentes temperaturas (a)–(b) 900 °C/5 h; (c)–(d) 950 °C/2 h; and (e)–(f) 1000 °C/ 1 h. [54]

Posteriormente los resultados de DRX mostraron plenamente la formación de la capa de apatita en función del tiempo, como se puede observar en la Figura 2.17. Donde se puede observar que la fase cristalina representada por triángulos va perdiendo cristalinidad al paso de los días debido a la formación de la capa de hidroxiapatita representado por los círculos a partir de los 3 días.



**Fig 2. 17** DRX, espectro de las espumas de vidrio 45S5 sinterizadas a 1000 °C por 1 h e inmersas en SBF durante 3, 7, 14 y 28 días. Los picos de  $\text{Na}_2\text{Ca}_2\text{Si}_3\text{O}_9$  y de hidroxiapatita están marcados por (▼) y (●) respectivamente [54].

Sepúlveda *et al.* [55] reportaron sobre el desarrollo de espumas de sol-gel con aplicaciones potenciales como implantes de injertos de hueso o como plantillas para la síntesis *in vitro* de tejido óseo para el trasplante.

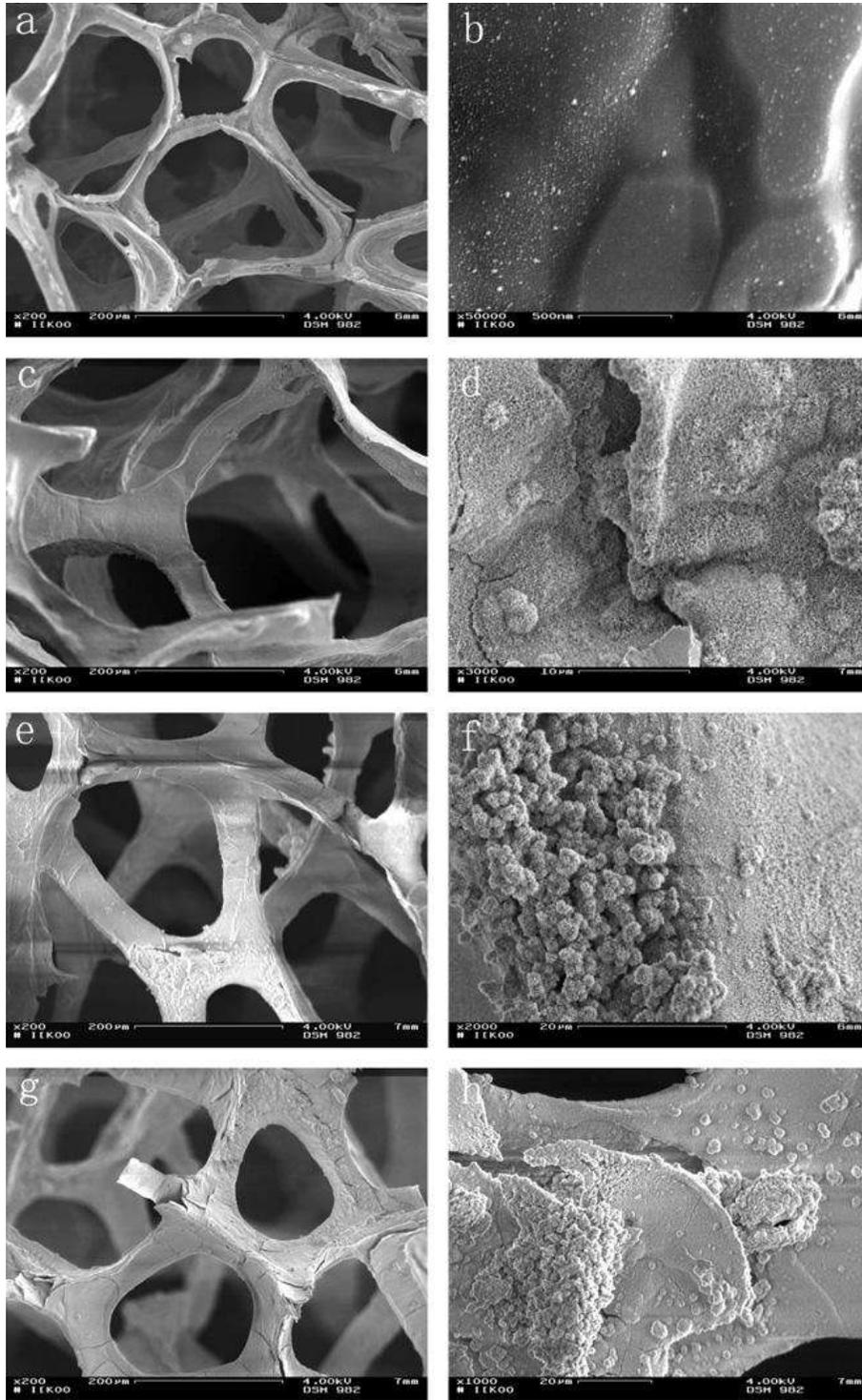
Estas espumas de vidrios bioactivos presentan una estructura jerárquica con macroporos interconectados (10-500  $\mu\text{m}$ ) y un marco mesoporoso (poros de 2-50 nm). Tres sistemas de vidrio se ensayaron para verificar la aplicabilidad de esta ruta de fabricación, a saber,  $\text{SiO}_2$ ,  $\text{SiO}_2$ -CaO y  $\text{SiO}_2$ -CaO- $\text{P}_2\text{O}_5$  (100S, 70S30C y 58S). Esta nueva clase de material combina

poros grandes para apoyar el crecimiento y vascularización del tejido con la característica de que los materiales bioactivos proporcionan la unión del hueso al tejido y la liberación controlada de estímulos biológicos iónicos para promover la proliferación de la célula ósea por activación de genes. Los resultados obtenidos fueron favorables de acuerdo a la porosidad requerida por lo contrario la ruta de fabricación no fue tan favorable debido a los costos y tiempos de fabricación.

Yufang *et al.* [56] investigaron la manera de fabricar andamios regenerativos con una estructura porosa jerárquica mesoporosa con tres diferentes composiciones de MBGs (vidrios bioactivos mesoporosos), el MBGS 7025C, MBGS 905C y MBGS 100S mediante una combinación de una esponja de poliuretano y un surfactante. Usaron el poliuretano como molde para una estructura macroporosa y el surfactante para crear la estructura mesoporosa. Hicieron varias probetas y las sumergieron en SBF para probar su capacidad bioactiva durante 24 h. Los resultados no fueron los esperados.

En la probeta MBGS 100S no se observó la capa de hidroxiapatita que se esperaba, esto debido a la composición del biovidrio, en las otras dos probetas si se observó pero con un espesor muy pequeño, se cree que fue debido al tiempo de inmersión en SBF, de 24 h. Se observó que después de las 24 hrs de inmersión la estructura jerárquica continua existiendo, pero ésta disminuye conforme pasan las horas.

Obtuvieron como conclusión que se pueden tener estructuras macroporosas de entre 200 y 400  $\mu\text{m}$  y mesoporosas hasta de 4.9 nm al mismo tiempo mediante esta técnica. (Figura 2.18).



**Fig 2. 18** Imágenes de MEB de los andamios regenerativos antes y después de haber sido sumergidos en SBF por 24 hrs, MBGS 100S (a, b), MBGS 90S5C (c, d), MBGS 80S15C (e, f) y MBGS 70S25C (g, h). [56]

Cannillo *et al.* [57] crearon andamios regenerativos de Policaprolactona (PCL) y Bioglass mediante la técnica *Salt-Leaching*. Teóricamente esta técnica es sencilla porque los poros se crean mediante la liberación de sales. Los resultados óptimos fueron de 0.8 MPa de resistencia a la compresión y una porosidad del 60% promedio, para una mezcla que contenía 50% de biovidrio. Esta técnica es relativamente fácil si se cuenta con un equipo indicado y un operador muy bien capacitado. De esto depende la calidad de los andamios ya que una mala preparación provoca aglomerados que reducen las propiedades mecánicas. Esta técnica requiere más estudios para ser optimizada al máximo.

Jun *et al.* [58] fabricaron andamios regenerativos mediante una técnica compleja y novedosa, que es la combinación del método de la réplica con el proceso *dip-coating*, diseñaron una estructura macro y microporosa de manera que se pudiera obtener la mayor área superficial en el andamio para una mayor proliferación de células al momento de su estancia en el cuerpo humano. Utilizaron una red o réplica de grafito que después fue removida con un tratamiento térmico a 900 °C. La porosidad obtenida fue del 95% y una resistencia a la compresión de 0.2 a 0.3 MPa. En este caso solo se tendría que disminuir un poco la porosidad para aumentar su resistencia a la compresión.

Liang *et al.* [59] crearon cerámicos porosos mediante el uso de vidrios a base de boro, ya que se ha demostrado en trabajos recientes de la Universidad de Ciencia y Tecnología de Missouri, que estos vidrios son capaces de convertir la HA en hueso directamente, al igual que el vidrio 45S5 [60]. Un vidrio con la composición mol% 25Na<sub>2</sub>O 25CaO-5P<sub>2</sub>O<sub>3</sub>-45B<sub>2</sub>O<sub>5</sub> se fundió. La fase cristalina rhexanita cristalizó espontáneamente durante el enfriamiento de la muestra. Los cerámicos porosos, se prepararon por unión de partículas de vidrio con distribuciones de tamaño de partícula en el intervalo de 100-500 μm aproximadamente, por 0.1 M de solución de Na<sub>2</sub>SiO<sub>3</sub>. Las porosidades de los andamios fueron entre 40 ~ 60% lo cual es muy bajo para ser un andamio regenerativo y sus resistencias a la compresión fueron de 0.1 ~ 0.4 MPa. La conversión de los andamios a hidroxiapatita (HA) se investigó mediante la medición de la pérdida de peso después de la inmersión de la muestra en una solución de K<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub>, 0.25 M con un valor de pH de 9.0 a 37 ° C como una función del tiempo. La hidroxiapatita se observó mediante DRX y MEB después de la inmersión durante 7 días. Los andamios resultaron ser biocompatibles y su biocompatibilidad se mejora después de la formación de una capa de HA.

Rohanova *et al.* [61] estudiaron el efecto de la solución TRIS (*tris-hydroxymethyl-aminomethano*), con fórmula  $(\text{HOCH}_2)_3\text{CNH}_2$ , en la reacción de bioactividad en los andamios regenerativos, llegando a la conclusión de que esta solución distorsiona un poco e inhibe el crecimiento de la capa de hidroxiapatita en la superficie del material. Experimentaron, con andamios regenerativos de biovidrio 45S5, hechos mediante la técnica de la réplica, sumergidos en cuatro soluciones diferentes durante 17 días, estas soluciones fueron: solución SBF+ TRIS, SBF sin TRIS, TRIS puro y agua desmineralizada.

Se ha trabajado la bioactividad de los andamios regenerativos en solución SBF con TRIS, por más de 2 décadas aproximadamente y se ha comprobado que ésta disuelve las dos fases cristalinas presentes en el andamio y ayuda a la propagación de una nueva fase de hidroxiapatita. Se ha visto que el TRIS forma una solución rica en iones  $\text{Ca}^{2+}$ , los cuales inhiben la formación de la capa de hidroxiapatita y la permeabilidad de esta capa disminuye con el tiempo de inmersión. Durante la inmersión, surge una disminución relativa del pH y esto hace que el crecimiento de la capa a su vez disminuya. Las fases cristalinas encontradas en sus andamios antes de la inmersión, fueron:  $\text{Na}_2\text{O} \cdot 2\text{CaO} \cdot 3\text{SiO}_2$  y  $\text{CaO} \cdot \text{SiO}_2$ . Después de la inmersión se observó que la concentración de calcio aumentó drásticamente en la fase inicial pero decae fácilmente en las soluciones que contenían TRIS, en soluciones sin TRIS la concentración aumentó hasta obtener un valor casi estable, como se puede observar en la Figura 2.19.

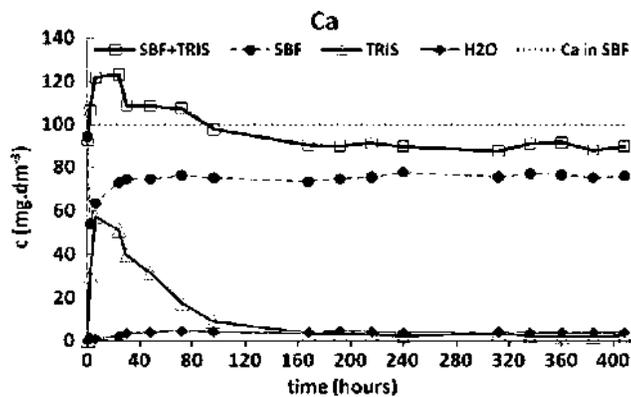


Fig 2. 19 Concentración de calcio en las soluciones [61]

En las soluciones que contienen TRIS, se mantiene el valor del pH, muy cercano al valor inicial. En las que no contienen TRIS, el valor aumenta significativamente, lo cual quiere decir que hay mucho transporte de iones de sodio en la solución como se observa en la Figura 2.20.

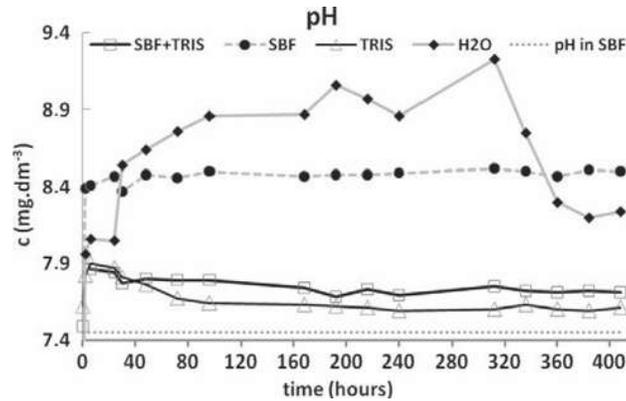


Fig 2. 20 Variación del pH respecto a la solución utilizada [61]

Respecto al cambio de masa después de la inmersión, las probetas que estuvieron sumergidas en soluciones que contenían TRIS tuvieron una disminución en masa entre el 50 y 70% de su masa original. La que estuvo sumergida en agua desmineralizada disminuyó el 21.1% en peso.

Por lo contrario en las probetas que estuvieron sumergidas en solución sin TRIS la masa aumentó, después de 9 días fue 3.9 % en peso más, esto quiere decir que el andamio no se disuelve tan fácilmente y forma el precipitado de una fase amorfa Ca-P que es mucho mayor que en las otras probetas.

El análisis de difracción de rayos X demostró que en las muestras que contenían TRIS, cristalizó la hidroxiapatita pero las dos fases anteriores desaparecieron.

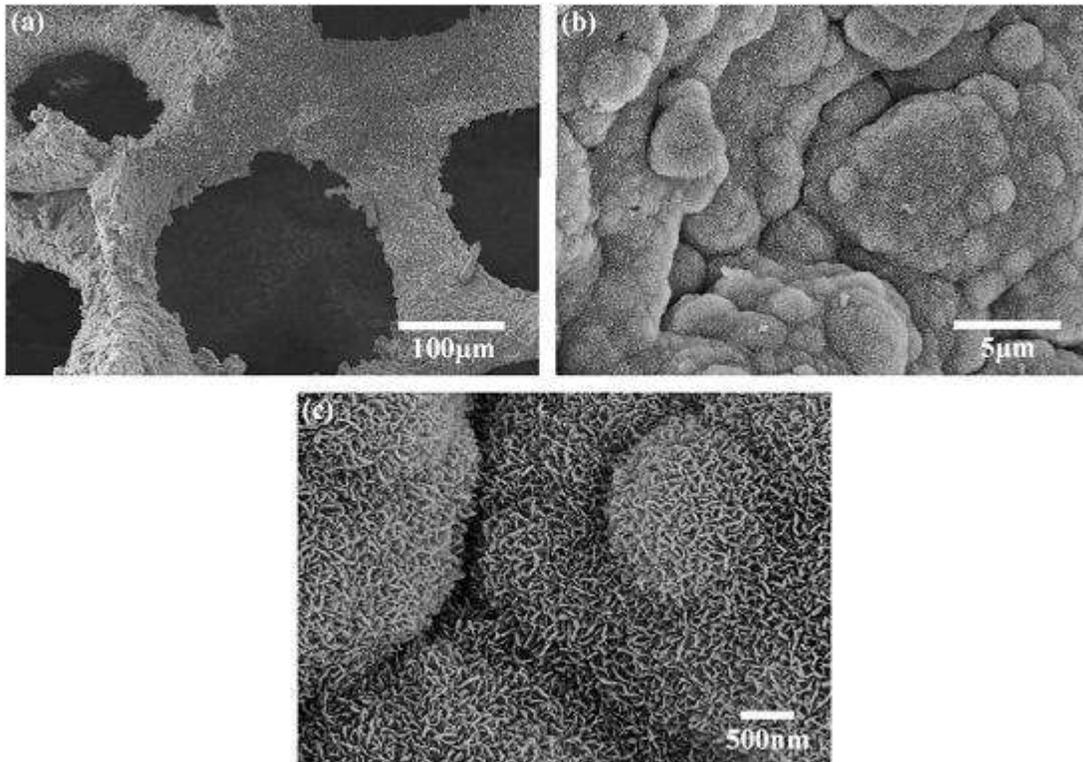
En la que no contenía TRIS, solamente SBF, la capa de hidroxiapatita no apareció, manteniéndose presentes las dos fases anteriores.

En la que solamente contenía TRIS, se observó únicamente la nueva fase que fue la de HA y finalmente, en la que sólo estuvo dentro de agua desmineralizada se mantuvieron las dos fases iniciales, como era de esperarse.

Se concluye que el TRIS tiene gran influencia en los resultados de la pruebas de bioactividad, ya que ayuda a la disolución del andamio.

Fu *et al.* [62] realizaron estudios de bioactividad *in vitro* e *in vivo* en andamios de biovidrio 13-19, fabricados por medio de la técnica de la réplica obteniendo muy buenos resultados en todos los aspectos.

Se asegura que el biovidrio 45S5 tiene la desventaja de cristalizar al momento de sinterizar, creando nuevas fases, las cuales no inhiben el crecimiento de la capa de hidroxiapatita al momento de inmersión en SBF pero si reducen el potencial de crecimiento de la misma. Por esta misma razón hacen uso del biovidrio 13-93, muy parecido en composición al 45S5 pero con menos tendencia a la desvitrificación, además de que es más fácil de obtener en forma de fibras. Crearon discos de 10 mm de diámetro por 2 mm de altura, los cuales fueron sumergidos en 50 mL de SBF cada uno, en base al protocolo diseñado por Kokubo *et al.* [45] También hicieron la inmersión en suero bobino para estudiar la bioactividad *in vivo*. Haciendo cambio de fluidos cada 24 h para favorecer el crecimiento de la capa apática. Obtuvieron una porosidad de  $85 \pm 2\%$ , un tamaño de poro de 100 a  $500\mu\text{m}$ , una resistencia a la compresión de  $11 \pm 1$  MPa, módulo elástico de  $3.0 \pm 0.5$  GPa y la creación de una capa de hidroxiapatita nanoestructurada a los 7 días de la inmersión en SBF como se puede observar en la Figura 2.21. Ésta ha sido en nuestra consideración, una de las mejores investigaciones encontradas, hasta la fecha.



**Fig 2. 21** Imágenes de MEB de la superficie de los andamios regenerativos después de la inmersión de 7 días. (a) Imagen de baja magnificación y (b, c) alta magnificación. [62]

Kim *et al.* [63] realizaron estudios de probetas de HA fabricadas mediante el método de Esponja Polimérica, obteniendo una porosidad del 85%, tamaño de poro entre 420 y 560  $\mu\text{m}$ , porosidad totalmente abierta y una resistencia a la compresión de 0.2 MPa.

Miao *et al.* [64] demostraron por medio de la técnica de Colado de geles y formado mediante agitación vigorosa, que se pueden obtener espumas de HA, con una porosidad entre el 69 y 86 %, un tamaño de poro de 490 a 1130  $\mu\text{m}$  y una resistencia a la compresión entre 0.01 y 0.02 MPa.

Sepulveda *et al.* [65] obtuvieron buenos resultados mediante la técnica de Colado de geles y formado mediante agitación vigorosa, creando esponjas de HA con una porosidad de entre el 76.7 y 80.2 %, una estructura con poros de entre 20 y 1000  $\mu\text{m}$ , porosidad abierta y cerrada con una resistencia a la compresión de entre 4.7 y 7.4 MPa.

Sepulveda *et al.* [66] en otra investigación, desarrollaron un trabajo en el cual obtuvieron andamios regenerativos de HA con un 76.7 y 80% de porosidad mediante la técnica de Colado de geles y formado mediante agitación vigorosa, en este caso obteniendo 2 tamaños de porosidades, el primero muy pequeño que varió de los 30 a 120  $\mu\text{m}$  y el segundo de 100 a 500  $\mu\text{m}$ , estas probetas presentaron tanto porosidad abierta como cerrada y una resistencia a la compresión de entre 1.6 y 5.8 MPa.

Ramay y Zhang [67] mediante la técnica de Esponja Polimerica, crearon esponjas de HA con una porosidad entre el 70 y 77%, tamaño de poro entre 200 y 400  $\mu\text{m}$ , porosidad totalmente abierta y una resistencia a la compresión de 0.55 a 5 MPa.

Los mismos autores pero en otra investigación, [68] mediante la técnica de Esponja Polimerica, usando trifosfato de calcio+HA como material fundamental, crearon esponjas con una porosidad del 73%, porosidad abierta entre 200 y 400  $\mu\text{m}$  y una resistencia a la compresión de 9.8 MPa.

Jones y Hench [69] desarrollaron por medio de la técnica sol-gel, esponjas de biovidrio (e.g.70S30C) con porosidad abierta y cerrada de 70 a 95%, teniendo un tamaño de poro homogéneo de 600  $\mu\text{m}$  y una resistencia a la compresión en un rango de 0.5 a 2.5 MPa.

Wu *et al.* [70] crearon andamios de vidrio bioactivo con redes interconectadas, adecuados para la regeneración ósea. Lo interesante de su investigación fue que eligieron una composición de vidrio bioactivo que no cristalizó debido a sus temperaturas de transición vítrea y la de inicio de cristalización. Todo esto porque investigaciones anteriores afirman que la cristalización del biovidrio reduce el potencial de bioactividad en el andamio. Utilizaron el vidrio ICIE 16 (49.46%  $\text{SiO}_2$ , 36.27%  $\text{CaO}$ , 6.6%  $\text{Na}_2\text{O}$ , 1.07%  $\text{K}_2\text{O}$  y 6.6%  $\text{P}_2\text{O}_5$  % en peso). La técnica usada fue la de *colado de geles*, esta técnica se ha utilizado anteriormente para producir cerámica densa o porosa o estructuras metálicas. El proceso implica la formación de un gel por polimerización *in situ* de monómeros orgánicos [71-72]; al hacerlo, el gel se une a las partículas y se quema durante la sinterización de las partículas. Esta técnica es una adaptación de la sol- gel, llevada a cabo por Sepulveda *et al.* [55], para producir hidroxiapatita porosa (HA). Las espumas de hidroxiapatita tenían redes de poros interconectados mucho mejores a las producidas por métodos más convencionales, tales como la técnica de sacrificio, y presentaron propiedades mecánicas mejoradas.

Una vez que fue elegido un proceso óptimo, los andamios se ensayaron en SBF. Se observó como el fosfato de calcio amorfo se formó en un transcurso de 8 h y una capa de apatita cristalina (HCA) se había formado en 3 días. La resistencia a la compresión fue de aproximadamente 2 MPa para un tamaño de interconexión media de 140  $\mu\text{m}$  entre los poros con un diámetro medio de 379  $\mu\text{m}$ , que podría ser una red porosa adecuada para la regeneración de hueso vascularizado. Este material tiene un potencial de unión al hueso más rápido y estimula más, el crecimiento óseo que los actuales injertos porosos de hueso artificial.

Callcut. S y Knowles. [73] intentaron crear andamios regenerativos con buenas propiedades de bioactividad por medio de la técnica de Esponja Polimérica, usando vidrio reforzado con HA, obteniendo una porosidad entre el 85 y 97%, la cual es muy buena dentro del rango requerido, con un tamaño de poro entre 420 y 560  $\mu\text{m}$ , porosidad abierta pero una resistencia muy baja a la compresión entre 0.01 y 0.017 MPa.

Trabajos recientes, por medio de la técnica de tecnología de polvos. [74] lograron obtener espumas de vidrio bioactivo 45S5 con una porosidad interconectada, entre 64 a 79%, la porosidad de las espumas resultaron con un tamaño de poro apropiado para el crecimiento óseo (100-1000  $\mu\text{m}$ ), estas espumas presentaron buena resistencia mecánica que varía en el rango de 1.7 a 5.5 MPa.

### III. DESARROLLO EXPERIMENTAL

#### III.1 Materias primas

- El vidrio bioactivo 45S5 se preparó en el laboratorio de materiales compuestos del IIM (UMSNH), mediante un proceso de fusión y temple.
- Como Ligante, se utilizó resina fenólica Varcum 29217 en polvo. Categoría: F Reactiva
- Se usó como agente espumante, Celogen TSH en polvo.
- Fluido corporal simulado. (SBF). Este fue preparado en los laboratorios del Instituto de Químico-Biológicas de la UMSNH, de acuerdo al protocolo propuesto por Kokubo *et al.* [45]

#### III.2 Elaboración del vidrio bioactivo 45S5

El vidrio 45S5 fue preparado mediante la fusión de una mezcla de polvos de alta pureza de  $\text{SiO}_2$ ,  $\text{Na}_2\text{CO}_3$ ,  $\text{CaO}$  y  $\text{P}_2\text{O}_5$  (Aldrich), la mezcla fue preparada estequiometricamente para obtener la composición final de  $24.5\text{Na}_2\text{O}-24.5\text{CaO}-6\text{P}_2\text{O}_5-45\text{SiO}_2$  (%peso) y mezclada en un contenedor de polietileno por un periodo de 15min. La fusión de los elementos se llevó a cabo en aire utilizando un crisol de sílice fundida utilizando el perfil térmico de la Figura 3.1.

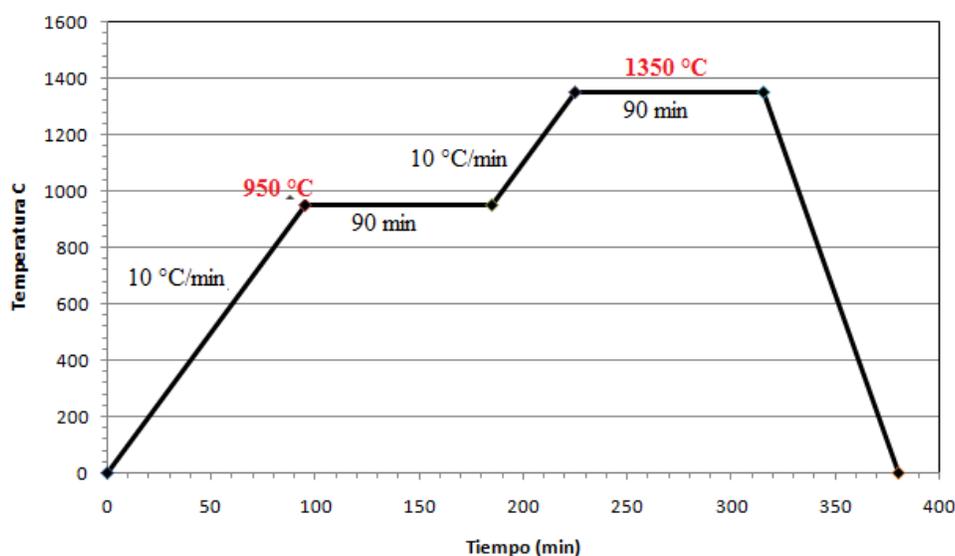


Fig 3. 1 Perfil térmico para la obtencion de vidrio bioactivo 45S5

El vidrio fundido fue vaciado sobre una placa de acero inoxidable y enfriado en aire atmosférico hasta temperatura ambiente.

El vidrio resultante fue molido y tamizado usando una malla de 250, para obtener tamaño de partícula menor a 63  $\mu\text{m}$ .

### **III.2.1 Caracterización del polvo del biovidrio 45S5**

Se realizaron pruebas para determinar la distribución y el tamaño de partícula sobre el polvo de biovidrio haciendo uso del analizador Beckman Coulter LAS 13 320. (Figura 3.2)



**Fig 3. 2** Analizador Beckman Coulter LAS 13 320.

La naturaleza amorfa del vidrio se determinó en un Difractómetro de rayos X (Siemens D-5000) y las temperaturas de transición del vidrio, cristalización y fusión se determinaron mediante el análisis térmico en un calorímetro diferencial de barrido (SDT Q600 T A Instruments) usando un crisol de alúmina y atmósfera de Ar desde  $T_{\text{amb}}$  hasta 1300°C.

La composición final del vidrio se evaluó mediante fluorescencia de rayos X (Siemens SRS 3000 automatizado).

### **III.3 Producción de las espumas de vidrio bioactivo 45s5**

Se utilizó el método combinado de tecnología de polvos y espumado de polímeros, propuesto en proyectos anteriores, en el departamento de Materiales compuestos del IIM, para fabricar

las probetas, debido a que es un método novedoso y fácil de manipular, no genera elevados costos.

Las espumas fueron producidas utilizando el proceso descrito en [51]. El vidrio en polvo fue mezclado con resina fenólica y un agente espumante en diferentes proporciones las cuales se muestran en la Tabla III.1, utilizando 2 atmósferas diferentes durante el proceso de espumado. Finalmente, se seleccionaron las condiciones, tanto de atmósfera como de relación ligante-espumante-biovidrio, que dieron como resultado espumas con las mejores características de porosidad y microestructura.

**Tabla III. 1** Diferentes relaciones biovidrio-espumante-ligante probadas para obtener una espuma con buenas propiedades físicas y mecánicas.

% <b>Varcum 29217</b>	% <b>Celogen TSH</b>	% <b>Biovidrio 45S5</b>	<b>Atmósfera</b>	
			<b>20SCFH (20% aire 80% nitrógeno)</b>	<b>100% aire</b>
59.5	0.5	40		x
57.5	0.5	42		x
54.5	0.5	45	x	x
52	0.5	47.5	x	x
49.5	0.5	50	x	
44.5	0.5	55	x	

Las cantidades de polvo fueron pesadas en una balanza analítica de laboratorio, mostrada en la Figura 3.3.



**Fig 3. 3** Balanza analítica y componentes de las espumas de biovidrio 45S5.

Los polvos se colocaron dentro de un frasco de cristal junto con 5 esferas pequeñas de acero inoxidable para la agitación y evitar aglomeraciones. El mezclado de los polvos se llevó a cabo en una túbula Glen Mills WAB, modelo T-F2 mostrada en la de la Figura 3.4.



**Fig 3. 4** Túbula F-20.

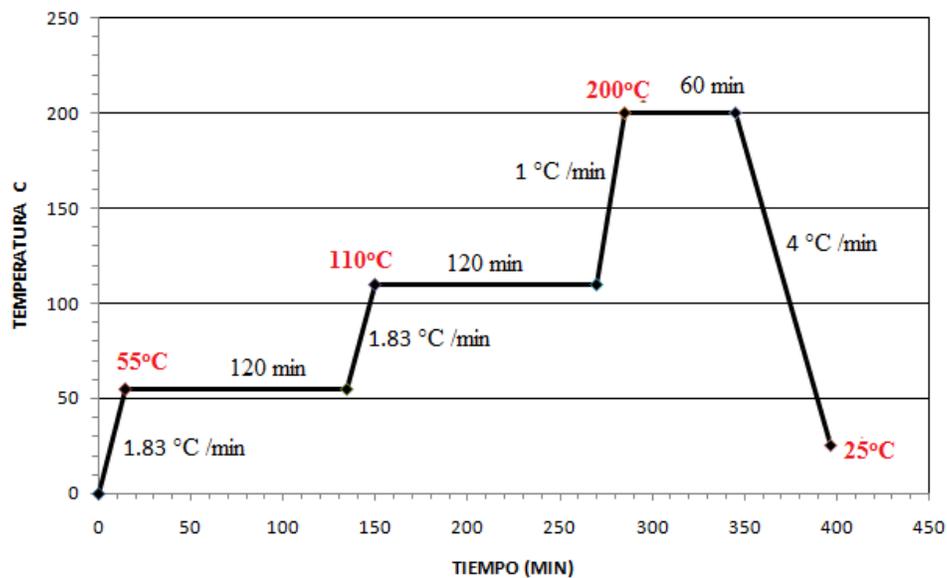
La mezcla de polvos se vació en moldes de alúmina, en proporciones de 8 g por cada molde, la mezcla se hizo proporcional a la cantidad de probetas que se querían fabricar en ese momento, como los polvos son muy ligeros, fue necesario aplicar presión cada vez que se vaciaba una pequeña cantidad de la mezcla en el molde para compactarlos. Posteriormente, las preformas se sometieron al proceso de espumado. Durante este proceso, el ligante se funde para formar una suspensión con las partículas de vidrio, al mismo tiempo que el agente espumante se descompone y forma una gas que expande la suspensión. El proceso de

espumado se llevó a cabo en un horno eléctrico de laboratorio tipo mufla marca THELCO. (Figura 3.5)



**Fig 3. 5** Moldes utilizados para espumar las probetas y horno eléctrico tipo mufla, usado para el perfil térmico.

Se diseñó un perfil térmico para esta etapa, el cual se muestra en la Figura 3.6, este perfil fue diseñado en base a los perfiles usados anteriormente en proyectos para espumas de materiales metálicos.



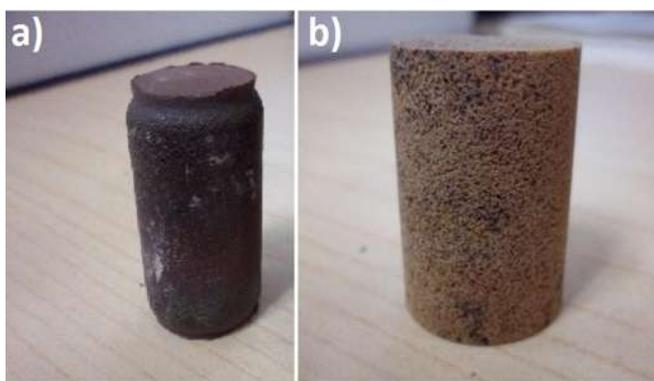
**Fig 3. 6** Perfil térmico diseñado para el espumado

La composición final de las espumas y la aportación de cada reactivo en cantidad esta mostrada en la Tabla III.2.

**Tabla III. 2** Composición de las espumas bioactivas 45S5.

<b>Composición</b>	<b>Resina fenólica cargada con partículas de biovidrio</b>	<b>Polvo</b>	<b>Composición (% en peso)</b>	<b>Aportación en (g)</b>
		Biovidrio 45s5	45	10.8
		Celogen TSH	0.5	0.12
		Varcum 29217	54.5	13.08
				<b>total : ~24g</b>

Después del espumado, el material resultante fue una espuma de resina fenólica cargada con partículas de vidrio bioactivo 45S5. Figura 3.7. Las espumas fueron entonces maquinadas en pequeños cilindros con dimensiones de:  $d= 18 \text{ mm}$ ;  $l = 20 \text{ a } 30 \text{ mm}$



**Fig 3. 7** Espuma de biovidrio: a) antes y b) después de maquinar.

Estos cilindros fueron tratados térmicamente para eliminar el ligante por pirólisis a  $500 \text{ }^\circ\text{C}$  y sinterizados en aire a  $975^\circ\text{C}$  para consolidar el material.

Las probetas fueron colocadas en una placa de alúmina que tiene un punto de fusión elevado para evitar la fusión de los materiales, la cual se pulió y limpió antes de ser usada y evitar cualquier tipo de reacción dentro del horno.

En la Figura 3.8 se muestra el acomodo de las probetas en la placa para evitar errores debido a choques térmicos que fueron introducidas en un horno industrial en el Instituto de Materiales Industriales en Boucherville Quebec, Canadá, Figura 3.9.

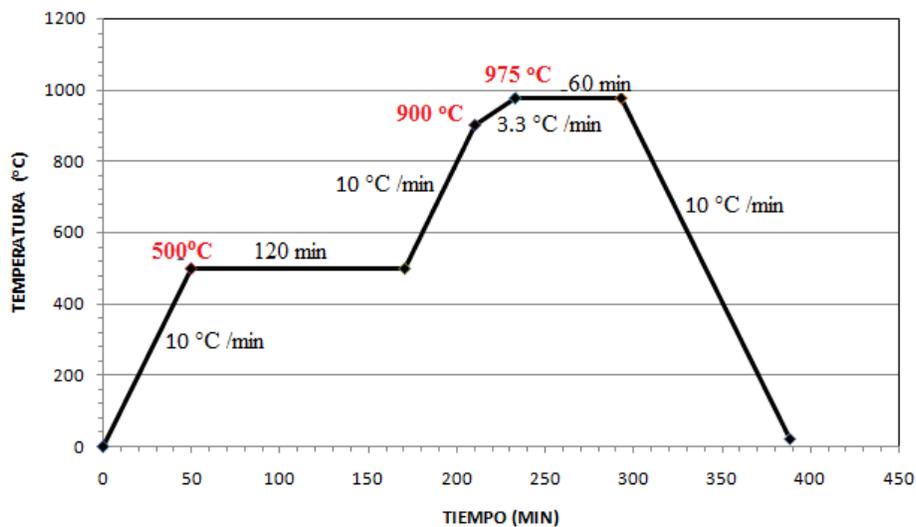


**Fig 3. 9** Acomodo de las probetas en la placa para un mejor sinterizado.



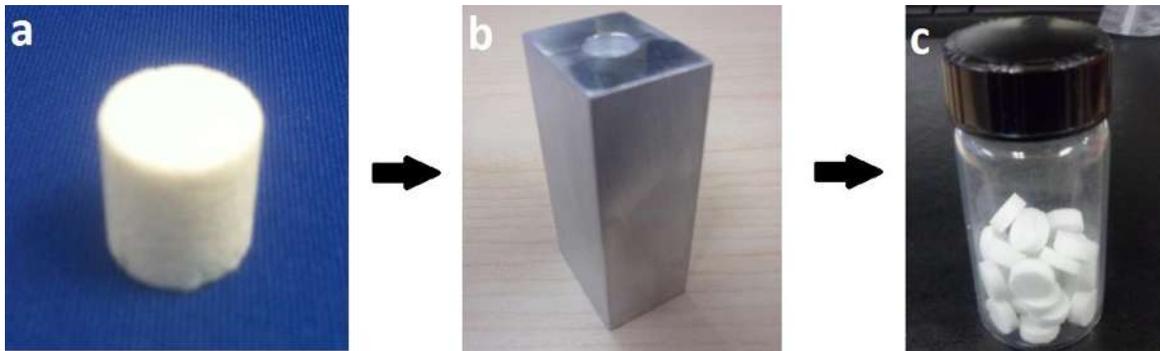
**Fig 3. 8** Horno usado para la pirólisis y sinterización de las probetas.

Se empleó el tratamiento térmico mostrado en la figura 3.10, elegido para la pirólisis y sinterizado.



**Fig 3. 10** Perfil térmico diseñado para la pirólisis y sinterizado de las espumas de biovidrio 45S5.

Se obtuvieron probetas no uniformes, por lo que fue necesario maquinadas y se prepararon pastillas de 3 mm de espesor por 10 mm de diámetro, utilizando un molde de acero inoxidable, bajo las condiciones apropiadas para evitar la contaminación. Estos pasos se muestran en la Figura 3.11.



**Fig 3. 11** a) probeta de biovidrio, después de ser maquinada. b)pieza diseñada y maquinada para realizar el corte de las pastillas con 3 mm de espesor. c) pastillas finales de biovidrio 45S5.

#### III.4 Caracterización de las espumas de vidrio bioactivo 45S5

La densidad específica  $\rho_{esp}$  de las espumas fue calculada usando la masa y las dimensiones de los cilindros sinterizados. La porosidad  $P$  fue calculada con la fórmula:

$$P = 1 - (\rho_{esp} / \rho_{teórica}) = 1 - \rho_{relativa} \quad (\text{Ec.3.1})$$

Donde  $\rho_{teórica} = 2.7 \text{ g/cm}^3$  es la densidad teórica del vidrio bioactivo 45S5. [66]

Se realizaron estudios para determinar el % de contracción de las espumas debido al tratamiento térmico, utilizando la siguiente ecuación y tomando el promedio de las mediciones obtenidas.

$$\text{Contracción (\%)} = 100 (A_0 - A_T / A_0) \quad (\text{Ec.3.2})$$

Donde  $A_0$  = Área inicial de la espuma a temperatura ambiente;  $A_T$  = Área de la espuma a temperatura ambiente después de sinterizar.

#### **III.4.1 Morfología de la superficie**

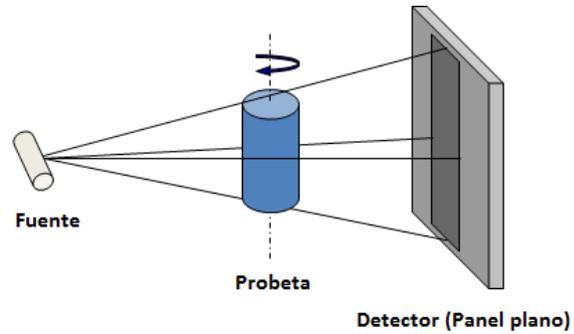
La estructura de las espumas fue caracterizada con un microscopio electrónico de barrido JEOL JSM-6100 en el IMI.

#### **III.4.2 Microtomografía de rayos X ( $\mu$ CT)**

La estructura interna de las espumas fue analizada por microtomografía de rayos X ( $\mu$ CT) utilizando un sistema XTek HMXST 225 de Metris, en el IMI (Boucherville, Quebec, Canadá). Esta técnica ha sido muy útil en el área de ingeniería de tejidos, gracias a las ventajas de ser un método no destructivo y proporcionar imágenes en 3D. Los equipos de microtomografía constan de dos componentes fundamentales: la fuente de rayos X y el sistema detector. La fuente o tubo de rayos X genera el haz de radiación que atraviesa inicialmente un colimador, encargado de obtener un haz paralelo y homogeneizar las trayectorias de los rayos. Se suelen utilizar filtros metálicos (Al, Al+Cu) para obtener un intervalo restringido de longitudes de onda. Una vez adaptado, el haz de rayos X atraviesa la muestra y llega al detector, que transforma la señal en un impulso eléctrico.

La fuente de rayos X se compone de un cátodo y un ánodo en el interior de un tubo a vacío. Cuando se calientan los filamentos del cátodo, se expulsan electrones de su superficie, y mediante un potencial eléctrico son forzados a acelerarse hacia el ánodo. Estos electrones vulneran los átomos de un blanco metálico (normalmente de wolframio) e interactúan con ellos transfiriendo su energía cinética al ánodo. Los electrones interactúan con los núcleos de los átomos de wolframio o con los electrones orbitales, y el resultado es la transformación de la energía cinética en energía electromagnética en forma de rayos X y en energía térmica, que es disipada por un sistema de enfriamiento mediante un tubo de cobre.

La distribución de tamaño de poro fue evaluada por análisis de imágenes de las secciones en 2D extraídas de la reconstrucción de  $\mu$ CT usando un analizador de imágenes Clemex. (Fig. 3.12).



**Fig 3. 12** Sistema XTek HMXST 225 de Metris, IMI (Boucherville Quebec Canadá).

### **III.4.3 *Análisis de las fases presentes (DRX)***

Las espumas sinterizadas, fueron caracterizadas por difracción de rayos X para determinar las fases cristalinas presentes después del sinterizado. Primeramente, las espumas fueron pulverizadas y después analizadas utilizando un difractómetro Bruker AXS D8 Discover. La adquisición fue llevada a cabo en el rango  $2\theta$  de  $20-90^\circ$  usando un paso de  $0.01^\circ$  y 2 s por paso.

### **III.4.4 *Determinación de la superficie específica***

La superficie específica es una característica importante que influye en aspectos como la cinética de las reacciones y la resistencia mecánica, también es necesaria para calcular el volumen de fluido corporal simulado necesario para la inmersión de cada disco, por ello, su determinación resulta importante.

El método BET, desarrollado por Brunauer, Emmett y Teller para la determinación del área superficial, se basa en la adsorción de un gas inerte a baja temperatura sobre una superficie sólida. En el caso de las muestras con una superficie específica expuesta igual o superior a  $1,0 \text{ m}^2/\text{g}$ , el gas que se utiliza para realizar el análisis es el nitrógeno, mientras que para materiales con superficies específicas inferiores a  $1.0 \text{ m}^2/\text{g}$ , el gas empleado podría ser el criptón. El equipo empleado para realizar estas mediciones fue un analizador de área superficial HORIBA- SA 9600 series, mostrado en la Figura 3.13. Se usaron 1.3394 g de polvos de espuma de biovidrio 45S5.



**Fig 3. 13** Analizador de área superficial, HORIBA- SA 9600 series.

### **III.5 Pruebas mecánicas de compresión**

Para la evaluación mecánica fue necesario maquinar las muestras en cilindros con dimensiones:  $d = 1$  cm;  $l = 0.5$  a  $0.9$  cm. Las pruebas de compresión fueron realizadas a 11 muestras elegidas aleatoriamente, en una maquina universal MTS (Fig. 3.14), con una celda de carga de 5 KN y una velocidad de avance de 2.5 mm/min. Se tomaron datos de las dimensiones de las probetas y mediante un software se obtuvieron los valores de resistencia a la compresión máximos.



**Fig 3. 14** Máquina universal MTS

### III.6 Evaluación de la bioactividad

Se realizó en discos espumados de biovidrio 45S5 de 10 mm de diámetro y 3 mm de espesor.

Los discos se sumergieron en fluido corporal simulado durante diferentes tiempos de inmersión.

Se eligieron siete tiempos de inmersión; 0 horas, 1, 3, 7, 14, 21 y 28 días, cada uno de los cuales corresponde al tiempo en que cada disco estuvo inmerso en SBF.

Para cada tiempo se dispuso de dos discos con el objetivo de limitar la dispersión de los resultados al hacer las caracterizaciones. En total fueron 14 discos los que se emplearon para las pruebas de bioactividad.

#### III.6.1 Esterilización de los discos

Los discos deben ser esterilizados para evitar o disminuir la presencia de bacterias que puedan afectar las condiciones del estudio. Para ello, se recurrió a un baño de ultrasonido radial (Fig. 3.15), utilizando etanol y acetona durante 30 min cada uno, después se dejaron secar en una estufa durante 24 h y fueron expuestas a rayos ultravioleta durante 40 min.



**Fig 3. 15** Baño de ultrasonido radial utilizado para la esterilización de las pastillas.

### **III.6.2 Preparación de los medios de inmersión**

#### **Fluido corporal simulado (SBF)**

Para la preparación del fluido corporal simulado (SBF) se utilizó el protocolo publicado por T. Kokubo *et al.* [45] cuyos pasos se detallan a continuación.

- 1- Se lavan todos los elementos que serán usados en la preparación del SBF con HCl-1M, detergente neutro y agua destilada. Los elementos que deben incluirse son los siguientes: un agitador magnético, ocho bandejas de plástico, un disco petri, un recipiente de plástico de 1000 mL, una botella de plástico de 1000 mL, un matraz aforado de vidrio de 1000 mL, una cuchara, un termómetro, un agitador de plástico, una pipeta desechable para ajustar el pH (a ser utilizada con HCl-1M), un embudo de plástico, un cilindro aforado de 50 mL, un recipiente de 50 mL. Utilizar un baño térmico para ajustar la temperatura y un equipo de medición de pH para ajustar su valor.
- 2- Se añade aproximadamente 700 mL de agua pura destilada dentro del recipiente de plástico de 1000 mL y se agita por medio de un agitador magnético mientras se calienta hasta 36,5°C (en el mismo agitador o en un baño térmico).
- 3- Se añaden los reactivos dentro del recipiente de plástico con agua pura destilada, siguiendo el orden mostrado en la Tabla III.3 y esperando que cada reactivo haya disuelto antes de agregar el siguiente.
- 4- Se introduce el recipiente de plástico, con todos los reactivos disueltos, dentro de un baño térmico a 36.5°C y se ajusta el pH a 7,4 mediante la adición de HCl-1M, agitando mediante un agitador mecánico. Se lava con agua pura destilada el termómetro, el agitador mecánico y el medidor del pH luego de sacarlos de la solución, y se introduce el agua usada para ello en el recipiente con los reactivos disueltos.
- 5- Se traspa la solución del recipiente de plástico de 1000 mL al matraz aforado de vidrio de 1000 mL y se deja enfriar hasta 20°C. Se ajusta el volumen total a 1000 mL añadiendo agua destilada.
- 6- Se traspa la solución a la botella de plástico de 1000 mL tapándola. Se mantiene la solución en refrigeración.

**Tabla III. 3** Cantidades de sales a añadir para obtener el SBF y sus purezas respectivas

<b>Reactivos</b>	<b>Pureza (100%)</b>	<b>Cantidad (g)</b>
<b>NaCl</b>	$\geq 99.5$	8.036
<b>NaHCO<sub>3</sub></b>	$\geq 99.5$	0.352
<b>KCl</b>	$\geq 99.5$	0.225
<b>K<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub>·3H<sub>2</sub>O</b>	$\geq 99.5$	0.23
<b>MgCl<sub>2</sub>·6H<sub>2</sub>O</b>	$\geq 99.5$	0.311
<b>HCl, 1.0M</b>	.	40 mL
<b>CaCl<sub>2</sub></b>	$\geq 99.5$	0.293
<b>Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub></b>	$\geq 99.5$	0.072
<b>TRIS</b>	$\geq 99.5$	6.063
<b>HCl 1, 0M</b>	.	necesario para ajustar el pH

Esta solución es estable hasta por 8 semanas, pero si se advierte la presencia de algún tipo de precipitado de alguna de las sales disueltas, debe desecharse y prepararse una nueva solución.

Antes de utilizar el SBF, se debe dejar reposar a temperatura ambiente y filtrar utilizando filtros estériles de 0.22  $\mu\text{m}$  bajo flujo laminar.

Los cilindros sumergidos en SBF se conservaron a 37°C en recipientes de polietileno y bajo condiciones estériles, en una sala de cultivos celulares.

### **Cálculo del volumen de SBF**

El volumen del SBF necesario fue calculado mediante la ecuación siguiente determinada por Kokubo *et al.* [45] en su protocolo de ensayo de bioactividad

$$V=A/10 \quad (\text{Ec. 3.3})$$

Donde  $V$  es el volumen (mL) del medio necesario por muestra y  $A$  ( $\text{mm}^2$ ) es el área superficial aparente de una muestra. Se divide entre 10 para hacer la conversión de  $\text{mm}^2$  a mL.

Si la muestra no fuera porosa, el área sería calculada por medio de la siguiente ecuación.

$$A=2\pi r^2+2\pi h \quad (\text{Ec. 3.4})$$

Donde  $A$  es el área total de una muestra, que en este caso es un cilindro.

En el presente trabajo, el área superficial de las pastillas, se calculó por medio del método teórico, suponiendo una pastilla densa y multiplicando el valor final por 1.5 debido a que nuestra pastilla real es porosa, por lo tanto el área superficial debe ser mayor y también se uso el método de BET para comparar resultados de áreas., la cantidad de muestra empleada fue 1.3394 g, el gas utilizado fue nitrógeno y la superficie obtenida fue de  $130\text{mm}^2/\text{g}$  por lo tanto, si sustituimos en la ecuación (3.3), tenemos:

$$A= (1.3394 \text{ g}) (130\text{mm}^2/\text{g}) = 174.12 \text{ mm}^2$$

$$V=174.12 \text{ mm}^2/10$$

$$V= 17.4 \text{ mL}$$

El volumen de SBF necesario fue 17.4mL por cada disco.

### **III.6.3 Procedimiento para la inmersión**

Todo el proceso de inmersión se realizó con las precauciones necesarias para evitar la contaminación de las pastillas. Se esterilizó la mesa de la campana con acetona y se dejó la luz UV encendida durante 5 min y se trabajó mediante régimen laminar. (Fig. 3.16).



**Fig 3. 16** Campana de flujo laminar usada para el proceso de inmersión de los discos.

Además, se manipularon las pastillas con pinzas previamente esterilizadas.

Las operaciones realizadas fueron las siguientes:

- Se puso la pastilla en un recipiente de plástico estéril.
- Se filtraron 100 mL de SBF con un filtro (casa comercial Millipore) de 0.22  $\mu\text{m}$
- Con una probeta graduada se midieron 15 mL de este medio y se añadieron en el recipiente. (Fig. 3.17)
- Se colocó el recipiente en la incubadora durante los tiempos de inmersión de: 1, 3, 7, 14, 21 y 28 días. Después de transcurrir el tiempo de inmersión, las pastillas se sacaron de la solución de SBF y se guardó el sobrante de la solución utilizada de cada muestra para analizar su pH (Fig. 3.18)



**Fig 3. 17** Tubos usados para la inmersión de los discos.



**Fig 3. 18** Tubos con la solución utilizada de cada muestra para analizar sus pH, mantenidos a 37°C en una estufa biológica.

#### **III.6.4 Control del pH**

Cada vez que se extraía un disco de la solución SBF el valor del pH fue medido. Estas medidas fueron realizadas mediante un medidor de pH Fisher Scientific AB15 (Fig. 3.19), utilizando la solución en la que se encontraban sumergidos los discos durante el estudio.

El control del pH de la solución es indispensable para asegurarse de que no hay cambios bruscos. El pH tiene un efecto muy pronunciado sobre la solubilidad de los vidrios bioactivos, porque la concentración de iones de SBF está sobresaturada respecto a varios de ellos. Se realizaron medidas de cada concentración de SBF para cada tiempo, y se utilizó un electrodo de iones selectivos (Ilyte) para hacer las medidas.



**Fig 3. 19** Medidor de pH Fisher scientific AB15, usado para medir el pH de la solución después de cada tiempo de inmersión. (Instituto de investigaciones Químico- Biológicas, UMSNH)

## **III.7 Caracterización de las espumas, después de la inmersión en SBF**

### **III.7.1 *Análisis de las fases presentes***

Se analizaron las fases presentes y sus proporciones respectivas empleando la técnica de difracción de los rayos X. Las condiciones de uso para las mediciones realizadas en este proyecto fueron:

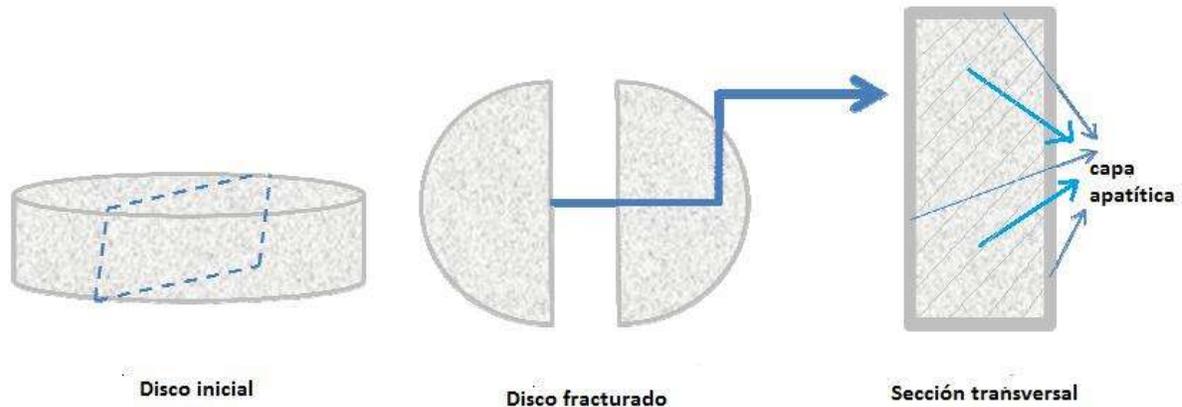
- Radiación Cu-K $\alpha$
- V=40 kV
- I=40 mA
- Paso de  $2\theta = 0.02^\circ$
- Tiempo de adquisición para cada punto = 15 segundos
- Rango de  $2\theta = [20^\circ-90^\circ]$

El objetivo es determinar si las espumas de biovidrio 45S5 presentan otras fases y ver la evolución de las fases a lo largo del ensayo de bioactividad.

### **III.7.2 *Morfología de la superficie***

A fin de observar la evolución de la microestructura y porosidad de los discos al cabo de los diferentes tiempos de inmersión, se fracturó un disco mediante la ayuda de pinzas metálicas, y se realizaron fotografías con un microscopio electrónico de barrido (JEOL JSM-6100).

Se observaron tanto la superficie del disco como la superficie de fractura según un corte transversal, como se muestra en la Figura 3.20.



**Fig 3. 20** Esquema del procedimiento de fractura de las pastillas.

### **III.7.3 Análisis relativo de la composición**

Se realizó el análisis de la composición de los discos a diferentes tiempos para determinar la relación Ca/P de los materiales. Se empleó la técnica de espectroscopia de energía dispersiva (EDS).

La superficie de la muestra tiene que ser plana para poder optimizar la cuantificación de los elementos.

### **III.7.4 Análisis por espectrometría infrarroja (FTIR)**

Esta es un tipo de espectrometría de absorción que utiliza la región infrarroja del espectro electromagnético. Como las demás técnicas espectroscópicas, puede ser utilizada para identificar un compuesto o investigar la composición de una muestra. La espectrometría infrarroja se basa en el hecho de que los enlaces químicos de las sustancias tienen frecuencias de vibración específicas, que corresponden a los niveles de energía de la molécula. Estas frecuencias dependen de la forma de la superficie de energía potencial de la molécula, la geometría molecular, las masas atómicas y el acoplamiento vibracional. Esta prueba se le hizo a los polvos de vidrio bioactivo 45S5, a una muestra sin haber sido inmersa en SBF y la que estuvo en inmersión durante 28 días

### III.7.5 Control de la variación de masa

Antes de proceder a la inmersión de los discos, estos fueron pesados con el objetivo de poder evaluar la variación de peso de cada uno de ellos al cabo de cada tiempo de inmersión, hecho que permite comprobar el intercambio de materia en la interface sólido/líquido. (Fig. 3.21). Después de sacar las pastillas de los recipientes donde estaban inmersas en SBF, se procedió a un secado en una caja petri, durante 24 h a 120 °C.



**Fig 3. 21** Disco dentro de la caja petri, listo para ser secado a 120° C y después pesado.

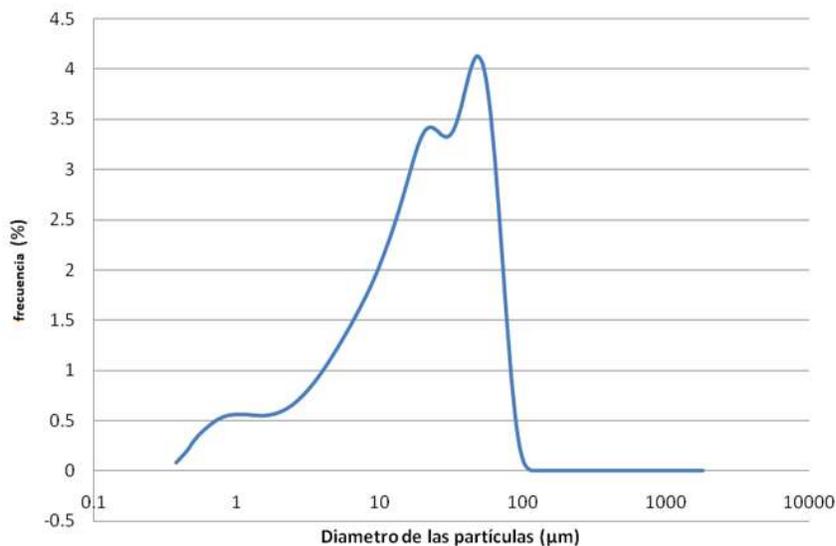
## IV. ANÁLISIS Y DISCUSIÓN DE RESULTADOS

### IV.1 Resultados de la caracterización del polvo de vidrio bioactivo 45S5

En esta primera parte se describen las características de los polvos de biovidrio 45S5 con los que se prepararon las espumas.

#### IV.1.1 Granulometría

En la Figura 4.1 se observa la distribución de tamaño de partícula (%) del biovidrio 45S5 en forma de polvo. Las partículas resultantes presentan tamaño menor a 63  $\mu\text{m}$  con la siguiente distribución de tamaño de partícula:  $d_{10}=2.71 \mu\text{m}$ ,  $d_{50}= 21.89 \mu\text{m}$  y  $d_{90}= 61.01 \mu\text{m}$ .



**Fig 4. 1** Curva de distribución de tamaño de partícula del biovidrio 45S5 obtenido por fusión.

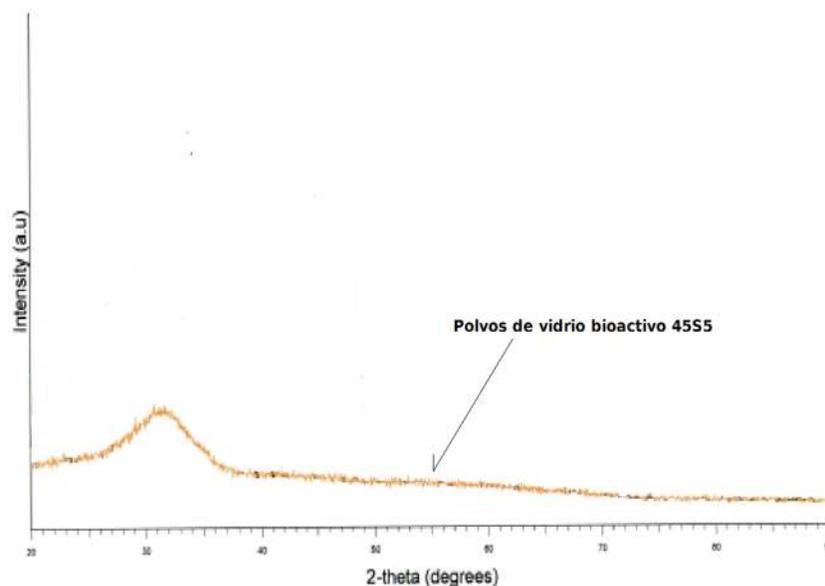
La distribución de tamaño del polvo presenta un comportamiento trimodal. Este comportamiento puede estar relacionado con el tipo de procedimiento utilizado para obtener el polvo, ya que el vidrio fue pulverizado en diferentes lotes y tamizado de 63  $\mu\text{m}$  (malla 230 ASTM) por cada lote de polvo obtenido. El vidrio que no pasaba a través de la malla, era introducido en el pulverizador para reducir su tamaño, esta operación se repitió hasta que todo

el vidrio pasara a través de la malla. Como las condiciones de pulverizado no eran las mismas para cada lote, cantidad de polvo en la cámara para pulverizar y tamaño de partícula a reducir, esto pudo originar la distribución de partícula multimodal.

#### **IV.1.2 Resultados de DRX del vidrio bioactivo 45S5**

De acuerdo al difractograma resultante mostrado en la Figura 4.2 se puede observar que el vidrio es amorfo ya que presenta una protuberancia en el rango de 25-35°,  $2\theta$ . Para los materiales amorfos este tipo de difractogramas son muy comunes y resultan debido al ordenamiento a corto alcance de los materiales tratados mediante esta técnica. Adicionalmente se puede observar la ausencia de algún pico bien definido lo cual nos da un indicativo de que no hubo la formación de fases secundarias debido a un agente externo o de algún contaminante detectable dentro de los límites de detección del equipo.

El comportamiento observado en el difractograma es muy similar al reportado por diferentes investigadores [52-53], en donde todos concuerdan con la misma protuberancia en un rango  $2\theta$  (25-35°) similar sin la presencia de ninguna fase extra.



**Fig 4. 2** Difractograma del vidrio 45S5 obtenido mediante fusión.

### IV.1.3 Resultados del análisis térmico diferencial

Los resultados del análisis por calorimetría diferencial de barrido realizado al vidrio 45S5 en polvo se presentan en la Figura 4.3. Las temperaturas características: temperatura de transición vítrea ( $T_g$ ), temperatura de cristalización ( $T_c$ ) y temperatura de fusión ( $T_m$ ) del vidrio bioactivo se indican directamente sobre la curva de análisis térmico. La curva presenta dos picos endotérmicos (570, 1145 °C) y un pico exotérmico (695 °C). El primer pico endotérmico corresponde a la temperatura de transición vítrea, mientras que el segundo indica la fusión del vidrio. El pico exotérmico representa la temperatura de cristalización del vidrio. Lefebvre *et al.* [76] obtuvieron las temperaturas características del biovidrio 45S5 por medio de análisis térmico diferencial, las cuales fueron:  $T_{g1} = 550$ ,  $T_{c1} = 610$ ,  $T_{g2} = 850$ ,  $T_{m1} = 1192$  y  $T_{m2} = 1235$  °C. Comparando los resultados obtenidos en esta investigación, se observa que difieren por pocos grados y esto puede ser debido a las diferencias en los parámetros usados durante los tratamientos térmicos sobre el vidrio 45S5, estas variaciones incluyen la atmósfera (20% N<sub>2</sub>- 80% O<sub>2</sub> contra argón (99.997 % pureza) en esta investigación) y la velocidad de calentamiento (5 °C/min contra 20 °C/min en esta investigación). Éste último es un parámetro muy importante, ya que los picos se tienden a desplazar hacia temperaturas más altas a medida que aumenta la velocidad de calentamiento [77]

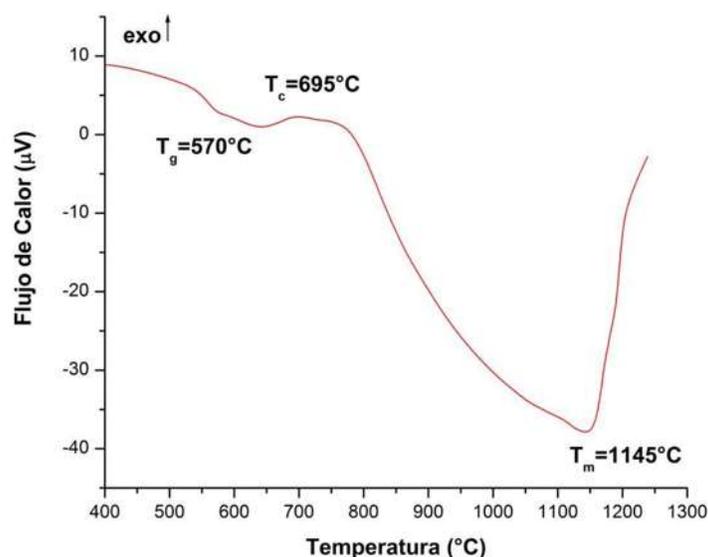


Fig 4. 3 Análisis por calorimetría diferencial de barrido del vidrio 45S5.

#### IV.1.4 Resultados de fluorescencia de rayos X (FRX) del vidrio 45S5

En la Tabla IV.1 se muestran los resultados obtenidos por FRX realizados sobre el polvo del vidrio 45S5 obtenido por fusión en esta investigación, se puede observar que la composición resultante en cuanto al contenido de SiO<sub>2</sub>, CaO, Na<sub>2</sub>O y P<sub>2</sub>O<sub>5</sub>, es muy similar a la estequiometría del Bioglass<sup>®</sup>, y, por lo tanto, contamos con la certeza de que en cuanto a composición, el vidrio bioactivo obtenido presentará las propiedades del Bioglass<sup>®</sup>. Se puede observar directamente de la Tabla que existen algunas impurezas (TiO<sub>2</sub>, Al<sub>2</sub>O<sub>3</sub>, Fe<sub>2</sub>O<sub>3</sub>, MgO, K<sub>2</sub>O) presentes en el vidrio, aunque se puede deducir que no presentan mayor riesgo ya que son cantidades pequeñas que no suelen inhibir el comportamiento bioactivo del vidrio bioactivo 45S5 [65].

**Tabla IV. 1** Resultados de FRX de la composición del vidrio obtenido en esta investigación.

	% SiO <sub>2</sub>	% TiO <sub>2</sub>	% Al <sub>2</sub> O <sub>3</sub>	% Fe <sub>2</sub> O <sub>3</sub>	% MgO	% CaO	% Na <sub>2</sub> O	% K <sub>2</sub> O	% P <sub>2</sub> O <sub>5</sub>	% PXC	% Total
BG-01	46.35	0.0041	1.736	0.132	0.187	21.9	22.252	0.145	5.551	1.59	99.88

#### IV.2 Resultados de la producción de espumas de vidrio bioactivo 45S5

El método de obtención de las espumas en este trabajo de investigación ha sido utilizado con anterioridad para la producción de espumas metálicas [78, 79, 80], pero nunca utilizado para producir espumas de vidrio 45S5. En esta sección se muestran los resultados obtenidos a partir de los experimentos realizados.

Los resultados obtenidos de la primera experimentación se muestran en la Tabla IV.2, de éstos, se eligió la mejor relación espumante-ligante-biovidrio para comenzar a fabricar todas las espumas, que son los que están resaltados en la tabla.

**Tabla IV. 2** Características de las primeras espumas obtenidas.

Biovidrio %	Atmósfera	Masa(g)	Diámetro (cm)	Altura (cm)	Volumen (cm <sup>3</sup> )	Densidad(g/cm <sup>3</sup> )	Porosidad%
40.0%	100% AIRE	1.13	1	1.1	0.86	1.30	51.79
40.0%	100% AIRE	1.15	1	1.1	0.86	1.34	50.54
42.0%	100% AIRE	1.53	1	1.2	0.94	1.62	39.82
42.0%	100% AIRE	1.56	1	1.6	1.26	1.24	54.15
<b>45.0%</b>	<b>100% AIRE</b>	<b>1.39</b>	<b>1</b>	<b>1.62</b>	<b>1.27</b>	<b>1.09</b>	<b>59.70</b>
<b>45.0%</b>	<b>100% AIRE</b>	<b>1.33</b>	<b>1.1</b>	<b>1.4</b>	<b>1.33</b>	<b>1.00</b>	<b>63.04</b>
45.0%	20SCFH (20% AIRE 80%NITROGENO)	1.15	1	1.1	0.86	1.32	50.93
47.5%	20SCFH (20% AIRE 80%NITROGENO)	1.13	1	1.1	0.86	1.31	51.66
47.5%	100% AIRE	1.13	1	1.1	0.86	1.30	51.79
50.0%	20SCFH (20% AIRE 80%NITROGENO)	1.05	0.9	1	0.64	1.65	39.06
55.0%	20SCFH (20% AIRE 80%NITROGENO)	1.05	0.9	1	0.64	1.65	39.06

Como se puede observar en la Tabla IV.2, el mejor porcentaje para trabajar fue el de 45%, debido a que con este porcentaje se obtuvieron las porosidades más elevadas, tomando en cuenta que todas las muestras fueron sinterizadas a la misma temperatura de 975°C pero con diferente atmósfera. Se llegó a la conclusión de que usando una atmósfera 20SCFH (20% aire 80% nitrógeno) las muestras obtenidas presentaban grietas, por lo tanto, se usó 100% aire como atmósfera preferencial.

En las siguientes Tablas, IV.3 y IV.4, se muestran los resultados obtenidos de las espumas preparadas durante la estancia en el IMI en Boucherville, Quebec, Canadá. Se trabajó con dos resinas fenólicas, las primeras 30 muestras fueron fabricadas con resina fenólica de un lote y las demás con resina de otro lote, lo cual, como se puede observar, no afectó en los resultados. La porosidad fue calculada con la ecuación (3.1).

**Tabla IV. 3** Características de las espumas fabricadas con la resina No 1.

#	Antes del sinterizado					Después del sinterizado						Diferencial		
	Diametro (cm)	altura (cm)	Masa(g)	Volumen (cm <sup>3</sup> )	Densidad (g/cm <sup>3</sup> )	Diametro (cm)	altura (cm)	Masa(g)	Volumen (cm <sup>3</sup> )	Densidad (g/cm <sup>3</sup> )	Porosidad%	Masa(g)	Volumen (cm <sup>3</sup> )	Densidad (g/cm <sup>3</sup> )
1	1.71	2.78	4.30	6.39	0.67	1.00	1.60	1.72	1.41	1.21	55.04	2.59	4.97	0.54
2	1.71	2.75	4.30	6.32	0.68	1.00	1.79	1.69	1.41	1.20	55.40	2.60	4.91	0.52
3	1.73	2.68	4.23	6.27	0.67	1.10	1.82	2.03	1.73	1.18	56.44	2.19	4.54	0.50
4	1.70	2.72	4.20	6.17	0.68	1.10	1.40	1.33	1.33	1.00	62.99	2.87	4.84	0.32
5	1.73	2.70	3.88	6.33	0.61	1.13	1.68	1.81	1.68	1.08	60.14	2.07	4.65	0.46
6	1.73	2.73	4.21	6.41	0.66	1.15	1.76	1.97	1.82	1.08	59.94	2.24	4.59	0.43
7	1.65	2.71	4.20	5.82	0.72	1.14	1.78	1.96	1.83	1.07	60.32	2.24	3.99	0.35
8	1.70	2.60	4.19	5.90	0.71	1.12	1.83	1.93	1.81	1.07	60.38	2.26	4.10	0.30
9	1.55	2.78	3.78	5.25	0.72	1.00	1.95	1.48	1.53	0.97	64.06	2.30	3.72	0.25
10	1.71	3.00	4.91	6.89	0.71	1.10	1.95	2.05	1.85	1.10	59.13	2.86	5.04	0.39
11	1.70	3.50	5.23	7.94	0.66	1.16	1.79	2.04	1.89	1.08	59.88	3.19	6.06	0.42
12	1.70	3.30	5.50	7.49	0.73	1.04	2.13	1.80	1.80	1.00	62.99	3.70	5.69	0.27
13	1.70	3.10	5.26	7.04	0.75	1.18	2.12	2.23	2.31	0.96	64.27	3.03	4.73	0.22
16	1.70	2.70	4.34	6.13	0.71	1.10	1.64	1.80	1.75	1.03	61.87	2.54	4.38	0.32
17	1.70	2.75	4.27	6.24	0.68	1.23	1.60	1.96	1.91	1.02	62.06	2.31	4.33	0.34
18	1.70	3.20	4.79	7.26	0.66	1.23	1.97	2.31	2.36	0.98	63.64	2.47	4.91	0.32
19	1.70	3.10	4.59	7.04	0.67	1.26	1.80	2.17	2.26	0.95	64.45	2.52	4.78	0.29
20	1.70	2.60	4.03	5.90	0.68	1.29	1.50	1.83	1.95	0.94	65.21	2.20	3.95	0.26
21	1.70	3.10	5.10	7.04	0.73	1.30	1.78	2.32	2.35	0.99	63.37	2.78	4.69	0.26
22	1.70	3.00	5.09	6.81	0.75	1.24	1.94	2.15	2.21	0.97	64.01	2.95	4.60	0.22
23	1.70	3.20	5.13	7.26	0.71	1.27	1.86	2.34	2.37	0.99	63.38	2.78	4.80	0.28
24	1.80	2.99	4.88	7.61	0.64	1.29	1.75	2.28	2.27	1.00	62.81	2.60	5.34	0.36
25	1.80	3.71	5.18	9.42	0.55	1.27	1.80	2.40	2.26	1.06	60.69	2.78	7.16	0.51
26	2.54	3.18	10.15	16.17	0.63	1.30	1.80	2.09	2.37	0.88	67.45	8.07	13.79	0.25
27	2.54	3.12	9.52	15.80	0.61	1.55	1.91	4.32	4.08	1.06	60.87	5.30	11.71	0.45
28	2.54	3.15	10.10	15.98	0.63	1.71	1.50	3.71	3.44	1.08	60.13	6.39	12.53	0.44
29	2.55	2.14	5.90	10.91	0.63	1.84	1.15	3.14	3.04	1.03	61.74	3.76	7.87	0.40
30	1.86	1.35	2.19	3.67	0.60	1.44	0.84	1.21	1.36	0.89	67.05	0.98	2.31	0.29
PROMEDIO											1.03		61.78	
DESVIACIÓN EST											3.03			

**Tabla IV. 4** Características de las espumas fabricadas con la resina No 2

#	Antes del sinterizado					Después del sinterizado						Diferencial		
	Diametro (cm)	altura (cm)	Masa(g)	Volumen (cm <sup>3</sup> )	Densidad (g/cm <sup>3</sup> )	Diametro (cm)	altura (cm)	Masa(g)	Volumen (cm <sup>3</sup> )	Densidad (g/cm <sup>3</sup> )	Porosidad %	Masa(g)	Volumen (cm <sup>3</sup> )	Densidad (g/cm <sup>3</sup> )
1.00	1.80	2.60	5.18	6.62	0.78	1.39	1.65	2.43	2.50	0.97	64.02	2.75	4.12	0.19
2.00	1.80	2.40	4.11	6.11	0.67	1.32	1.40	1.93	1.92	1.01	62.71	2.18	4.19	0.33
3.00	1.80	2.70	5.29	6.87	0.77	1.28	1.60	2.46	2.07	1.19	55.81	2.82	4.81	0.42
4.00	1.80	2.40	4.67	6.11	0.76	1.29	1.50	2.22	1.97	1.12	58.39	2.46	4.13	0.36
7.00	1.70	2.65	5.19	6.01	0.86	1.25	1.60	2.31	1.96	1.18	56.48	2.88	4.05	0.31
5.00	1.70	2.45	4.30	5.56	0.77	1.25	1.60	2.31	1.98	1.17	56.72	1.99	3.58	0.39
6.00	1.70	1.95	3.81	4.43	0.86	1.40	1.65	2.35	2.52	0.93	65.56	1.46	1.90	0.07
8.00	1.70	2.80	6.32	6.35	0.99	1.25	1.67	2.02	2.06	0.98	63.67	4.30	4.29	-0.01
9.00	1.90	2.70	4.96	7.66	0.65	1.23	1.32	1.62	1.58	1.02	62.10	3.35	6.08	0.37
10.00	1.85	2.00	3.52	5.38	0.66	1.36	1.50	2.35	2.19	1.07	60.24	1.18	3.19	0.42
11.00	1.70	2.70	4.37	6.13	0.71	1.21	1.60	2.03	1.85	1.10	59.40	2.35	4.28	0.38
12.00	1.70	2.75	4.42	6.24	0.71	1.23	1.55	2.09	1.85	1.13	58.21	2.33	4.39	0.42
13.00	1.70	3.30	5.44	7.49	0.73	1.24	1.90	2.56	2.28	1.12	58.41	2.88	5.21	0.40
14.00	1.70	3.30	5.55	7.49	0.74	1.22	2.00	2.59	2.32	1.12	58.66	2.96	5.17	0.37
15.00	1.70	3.30	5.49	7.49	0.73	1.36	1.90	2.55	2.74	0.93	65.61	2.94	4.75	0.20
16.00	1.80	2.50	4.33	6.36	0.68	1.30	1.50	2.02	1.98	1.02	62.13	2.30	4.38	0.34
17.00	1.80	2.80	5.13	7.13	0.72	1.28	1.60	2.39	2.04	1.17	56.63	2.73	5.08	0.45
18.00	1.80	2.85	5.15	7.25	0.71	1.40	1.60	2.41	2.45	0.98	63.67	2.74	4.80	0.27
19.00	1.80	2.96	5.24	7.53	0.70	1.31	1.80	2.45	2.44	1.01	62.75	2.78	5.10	0.31
20.00	1.80	3.00	5.43	7.63	0.71	1.40	1.75	2.54	2.69	0.95	64.99	2.89	4.95	0.23
21.00	1.80	3.10	5.57	7.89	0.71	1.39	1.75	2.61	2.64	0.99	63.41	2.97	5.25	0.28
22.00	1.80	3.18	5.67	8.09	0.70	1.29	1.81	2.63	2.35	1.12	58.63	3.04	5.74	0.42
23.00	1.80	3.20	5.67	8.14	0.70	1.23	1.82	2.07	2.17	0.95	64.66	3.60	5.97	0.26
24.00	2.50	3.20	9.80	15.71	0.62	1.24	1.80	2.05	2.18	0.94	65.17	7.75	13.52	0.32
25.00	2.42	2.80	8.96	12.88	0.70	1.73	1.70	4.23	4.00	1.06	60.79	4.73	8.88	0.36
26.00	2.40	3.20	10.11	14.48	0.70	1.88	1.75	4.69	4.84	0.97	64.10	5.42	9.64	0.27
27.00	2.40	3.32	9.98	15.02	0.66	1.89	1.70	4.67	4.78	0.98	63.84	5.31	10.23	0.31
28.00	1.80	2.90	5.10	7.38	0.69	1.33	1.70	2.36	2.36	1.00	62.98	2.74	5.02	0.31
29.00	1.80	3.20	5.64	8.14	0.69	1.38	1.80	2.62	2.68	0.97	63.90	3.02	5.46	0.28
30.00	1.80	3.20	5.56	8.14	0.68	1.39	1.80	2.58	2.73	0.94	65.01	2.98	5.42	0.26
31.00	1.80	3.20	5.75	8.14	0.71	1.24	2.00	2.67	2.41	1.11	59.00	3.09	5.74	0.40
32.00	1.80	3.20	5.52	8.14	0.68	1.23	1.85	2.56	2.20	1.16	56.94	2.97	5.94	0.48
33.00	1.75	3.10	5.37	7.46	0.72	1.40	1.75	2.49	2.69	0.93	65.73	2.89	4.77	0.20
34.00	2.40	2.80	8.88	12.67	0.70	1.88	1.65	4.16	4.55	0.91	66.13	4.72	8.11	0.21
35.00	1.80	3.10	5.40	7.89	0.68	1.38	1.75	2.50	2.61	0.96	64.55	2.90	5.28	0.27
36.00	1.80	2.90	5.04	7.38	0.68	1.30	1.64	2.33	2.17	1.07	60.19	2.71	5.21	0.39
37.00	1.79	2.92	5.03	7.35	0.68	1.28	1.77	2.35	2.26	1.04	61.47	2.67	5.08	0.36
38.00	1.79	2.85	4.88	7.17	0.68	1.30	1.73	2.28	2.28	1.00	62.91	2.60	4.89	0.32
39.00	1.79	2.80	4.77	7.05	0.68	1.27	1.69	2.23	2.14	1.04	61.43	2.54	4.91	0.37
40.00	2.54	3.34	10.80	16.90	0.64	1.71	1.94	4.97	4.46	1.12	58.68	5.83	12.45	0.48
41.00	2.54	2.86	9.12	14.47	0.63	1.75	1.87	4.70	4.51	1.04	61.41	4.42	9.96	0.41
42.00	2.54	3.20	9.80	16.23	0.60	1.78	1.88	4.96	4.68	1.06	60.77	4.84	11.55	0.46
43.00	1.78	3.03	9.21	7.56	1.22	1.79	1.84	4.54	4.63	0.98	63.69	4.67	2.93	-0.24
44.00	2.47	3.41	10.22	16.35	0.62	1.68	1.99	4.91	4.42	1.11	58.86	5.31	11.93	0.49
45.00	2.47	3.22	10.15	15.43	0.66	1.65	1.95	4.85	3.94	1.23	54.41	5.30	11.49	0.57
PROMEDIO											1.04	61.44		
DESVEST											3.13			

Se eligieron 14 espumas de las 75 fabricadas, las cuales se muestran en la Tabla IV.5, de las cuales se derivaron los discos para las pruebas de bioactividad.

**Tabla IV. 5** Características de las 14 espumas elegidas.

Prueba no	Antes del sinterizado					Después del sinterizado						Diferencia de:		
	Diametro (cm)	Altura (cm)	Masa(gr)	Volumen (cm <sup>3</sup> )	Densidad (gr/cm <sup>3</sup> )	Diametro (cm)	Altura (cm)	Masa(gr)	Volumen (cm <sup>3</sup> )	Densidad (gr/cm <sup>3</sup> )	Porosidad%	Masa(gr)	Volumen (%)	Densidad (gr/cm <sup>3</sup> )
1	1.701	2.716	4.198	6.172	0.680	1.100	1.399	1.329	1.330	0.999	62.989	2.869	21.541	0.319
2	1.730	2.695	3.884	6.335	0.613	1.129	1.682	1.812	1.684	1.076	60.144	2.072	26.580	0.463
3	1.730	2.727	4.207	6.410	0.656	1.147	1.644	1.967	1.699	1.158	57.113	2.240	26.500	0.502
4	1.700	3.100	5.259	7.036	0.747	1.177	1.980	2.225	2.154	1.033	61.741	3.034	30.617	0.286
5	1.700	3.200	4.786	7.263	0.659	1.157	1.970	2.313	2.071	1.117	58.639	2.473	28.516	0.458
6	1.700	3.200	5.125	7.263	0.706	1.200	1.858	2.342	2.101	1.115	58.721	2.783	28.931	0.409
7	2.541	3.115	9.619	15.796	0.609	1.650	1.910	4.315	4.084	1.057	60.869	5.304	25.854	0.448
8	2.540	3.153	10.097	15.977	0.632	1.710	1.500	3.708	3.445	1.076	60.134	6.389	21.562	0.444
9	1.800	2.960	5.235	7.532	0.695	1.250	1.800	2.451	2.209	1.110	58.899	2.784	29.326	0.415
10	2.537	2.863	9.120	14.473	0.630	1.687	1.870	4.697	4.180	1.124	58.381	4.423	28.881	0.494
11	2.471	3.218	10.147	15.432	0.658	1.820	1.512	3.875	3.934	0.985	63.514	6.272	25.490	0.328
12	2.473	3.205	10.020	15.395	0.651	1.854	1.523	3.813	4.112	0.927	65.653	6.207	26.708	0.276
13	2.472	3.494	10.715	16.769	0.639	1.897	1.632	4.238	4.613	0.919	65.971	6.477	27.506	0.280
14	2.478	3.217	9.931	15.515	0.640	1.795	1.572	3.986	3.978	1.002	62.889	5.945	25.641	0.362

Como se puede observar en la Tabla IV.5, la porosidad varía entre el 57 y 65% y el volumen disminuyó alrededor de un 25% del inicial después de la pirólisis y el sinterizado.

En las Figuras. 4.4 y 4.5 se pueden observar las espumas obtenidas en la primera etapa del proceso por tecnología de polvos, las cuales fueron maquinadas con el objeto de obtener muestras cilíndricas y evitar el incremento de esfuerzos debido a la irregularidad de éstas después del proceso de espumado.

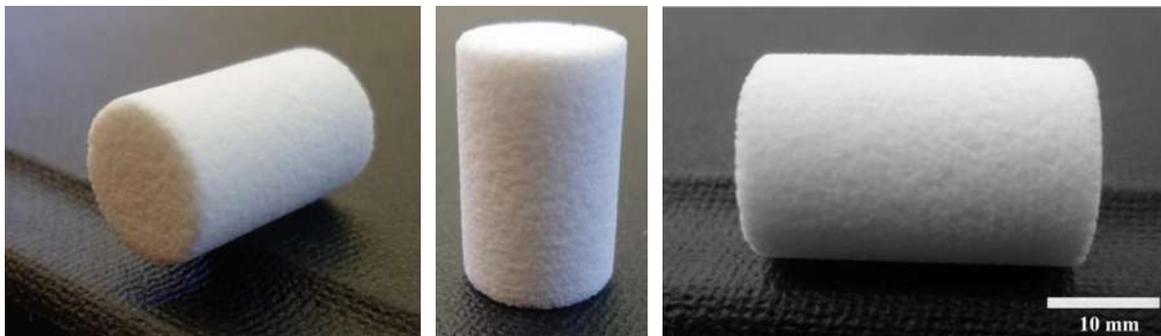


**Fig 4. 4** Espumas de biovidrio antes de la pirólisis y el sinterizado.

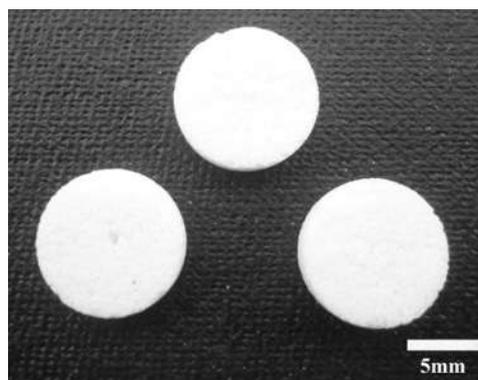


**Fig 4. 5** Espuma de biovidrio 45S5.

En las Figuras 4.6 y 4.7 se muestran las espumas de biovidrio 45S5 obtenidas finalmente después del tratamiento térmico. En esta etapa el ligante fue removido de la estructura, mediante la pirólisis y sinterizadas a 975°C.



**Fig 4. 6** Diferentes vistas de las espumas de biovidrio 45S5 obtenidas.

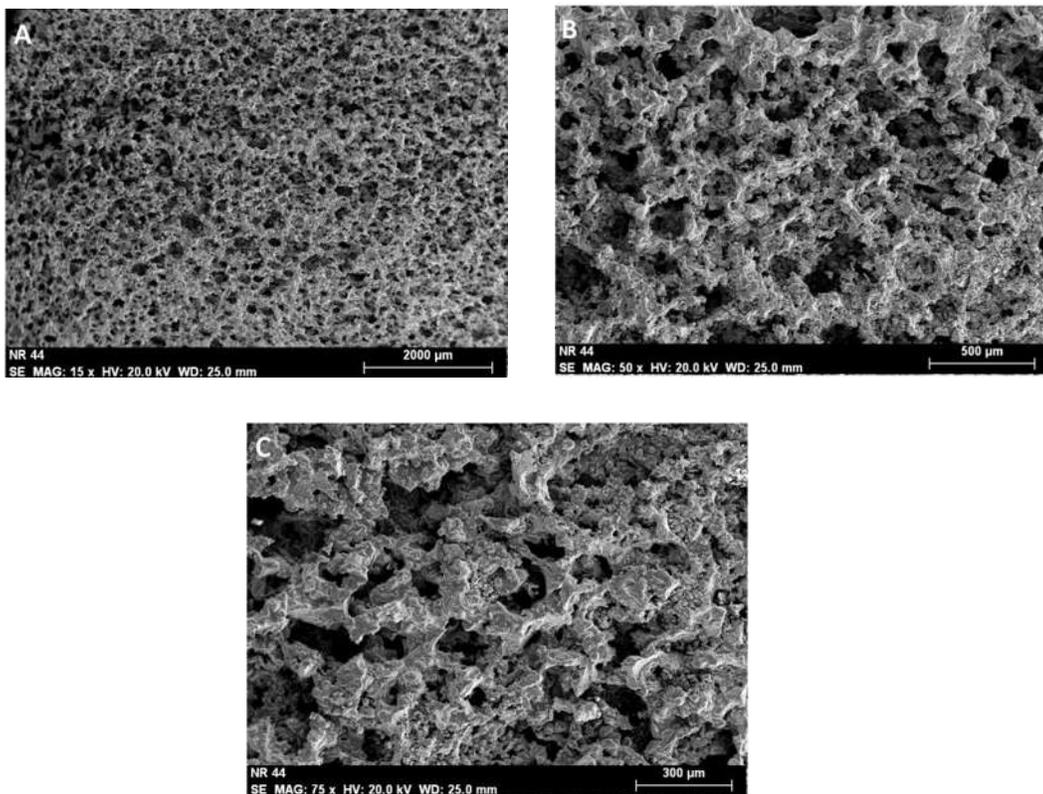


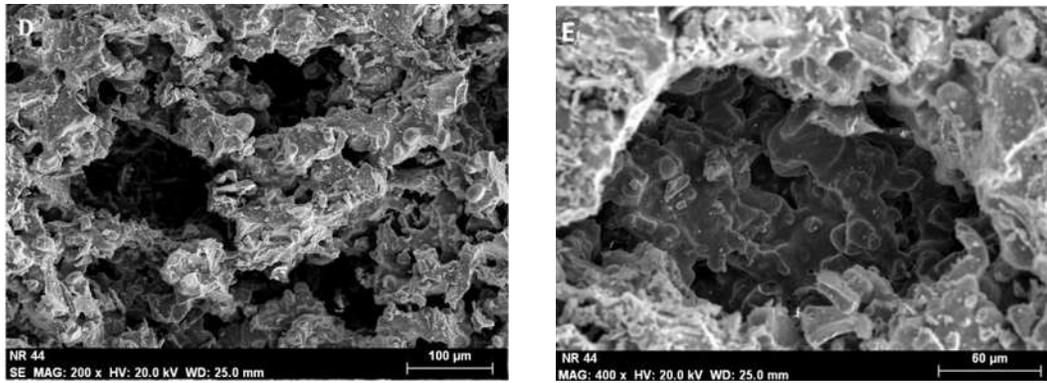
**Fig 4. 7** Espumas de biovidrio 45S5 después del corte para su inmersión en SBF

### IV.3 Resultados de las espumas de vidrio bioactivo 45s5, antes de la inmersión en SBF

#### IV.3.1 Micrografías mediante MEB del las espumas de vidrio bioactivo 45S5

En la Fig. 4.8 se muestran las micrografías de las espumas de biovidrio 45S5 obtenidas después de haber sido sinterizadas a 975 °C, se puede observar una estructura porosa uniforme con un poco de variación en algunas zonas (A). Se tomaron imágenes a mayores magnificaciones con la finalidad de observar la estructura celular a detalle. Las paredes de los poros se muestran con un grado de densificación moderado (B), lo cual es conveniente para los procesos de bioactividad posteriores.



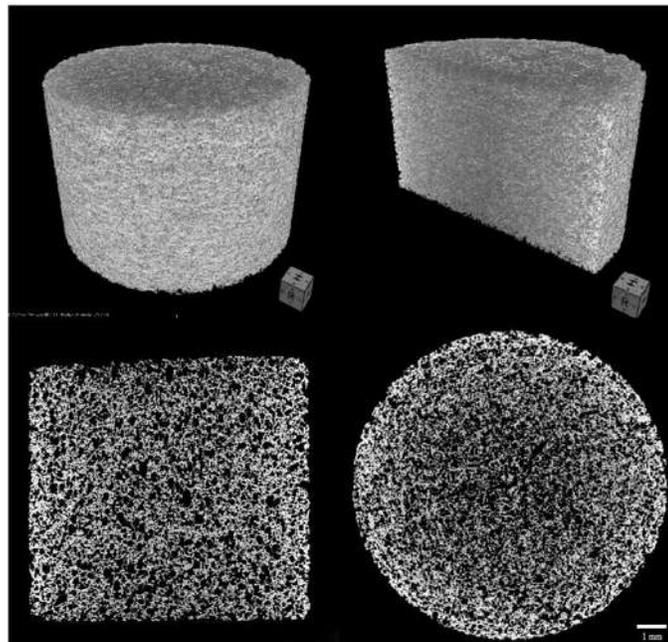


**Fig 4. 8** Micrografías de las espumas antes de ser sumergidas en SBF, mayor magnificación sucesivamente de A-E.

### IV.3.2 Microtomografía de rayos X ( $\mu$ CT)

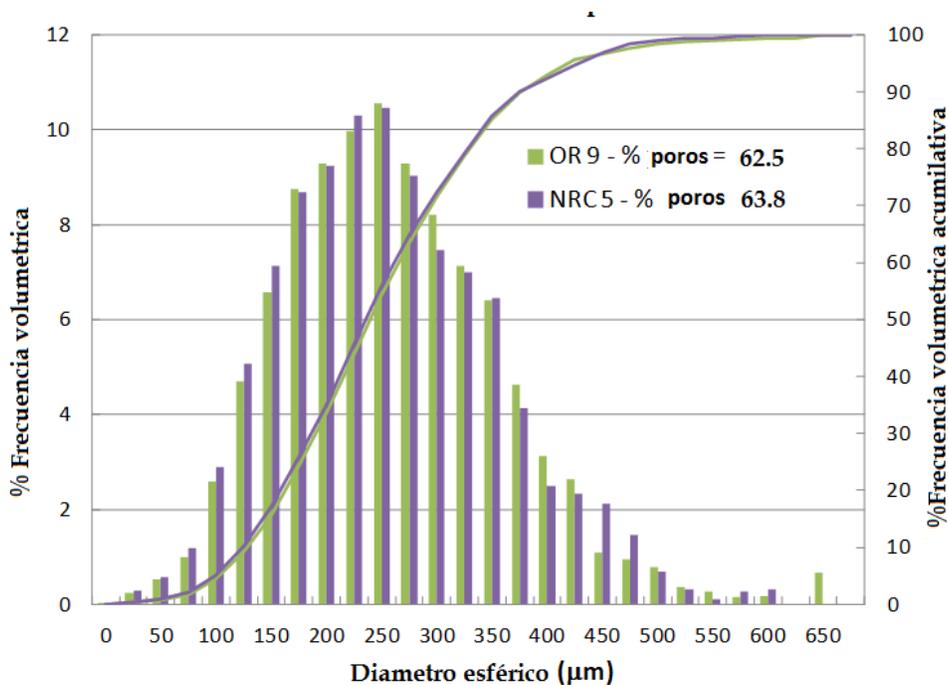
#### Tamaño de poro.

Por medio de la tomografía, se obtuvieron imágenes en 2D a partir de las imágenes 3D de las espumas. En estas imágenes podemos observar el grosor de las líneas que nos representa las paredes de la espuma. En la Figura 4.9, se observa una porosidad uniforme y al mismo tiempo interconectada.



**Fig 4. 9** Microtomografías de una espuma de vidrio bioactivo, antes de ser sumergida en SBF.

En la Figura 4.10 se puede observar la distribución del tamaño de poro, del lado izquierdo presenta la frecuencia volumétrica hasta un 10.5% aproximadamente de un tamaño de 250  $\mu\text{m}$  y del lado derecho presenta la frecuencia volumétrica acumulada hasta un 100%. El comportamiento es cuasimodal y fue determinado para una pastilla hecha con la resina 1 y una con la resina 2. No se observa cambio alguno en la distribución de poros entre las dos pastillas y esta distribución está dentro del rango de los parámetros requeridos (0-500 $\mu\text{m}$ ) para ser un andamio regenerativo.

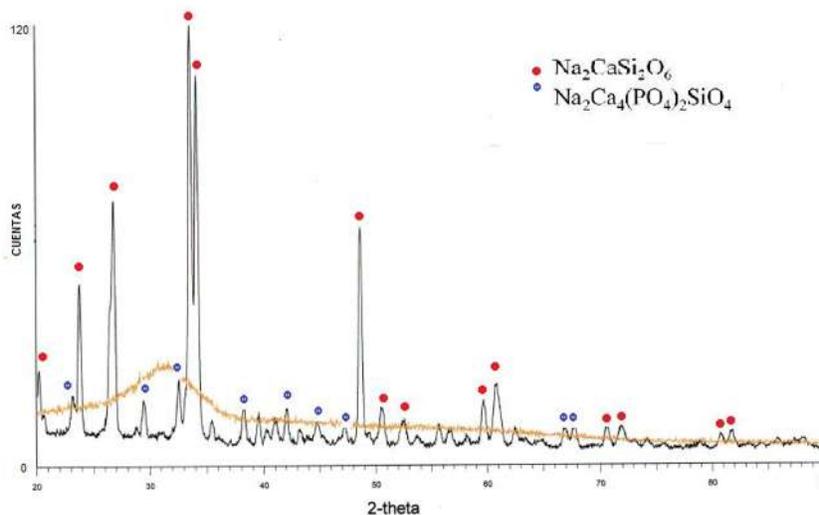


**Fig 4. 10** Análisis de tamaño de poro.

### IV.3.3 Resultados de DRX de las espumas de vidrio bioactivo 45S5

Los resultados por DRX de la Fig. 4.11, nos indican la transformación de una fase amorfa, propia del biovidrio 45S5, a dos fases cristalinas en las espumas que fueron obtenidas después de haber sido sinterizadas. Los picos resultantes corresponden a la fase principal  $\text{Na}_6\text{Ca}_3\text{Si}_6\text{O}_{18}$  (JCPDS 77-2189) y a una fase secundaria  $\text{Na}_2\text{Ca}_4(\text{PO}_4)_2\text{SiO}_4$  (JCPDS 29-1193)

Las fases obtenidas ya habían sido reportadas anteriormente por diferentes investigadores que han trabajado en la cristalización del biovidrio 45S5. Lefebvre *et al.* [81] han reportado la transformación del vidrio bioactivo 45S5 después de un tratamiento térmico, dentro de un rango de 550 a 950°C, mencionando la obtención de esta fase primaria, así como la secundaria. Lin *et al.* [82] también muestran estas dos fases como resultado, después de tratar térmicamente el biovidrio 45S5 a 715°C. También Bocaccini *et al.* [83] obtuvieron estas mismas fases después de tratar térmicamente el biovidrio 45S5 de 750 a 950°C.



**Fig 4. 11** Fases obtenidas por medio de DRX de las espumas, antes de ser sumergidas en SBF.

#### **IV.3.4 Superficie específica de las espumas de vidrio bioactivo 45S5**

Esta prueba se realizó con la finalidad de determinar el área superficial de las muestras y poder hacer un cálculo de la solución SBF necesaria para hacer la inmersión de cada pastilla.

Se obtuvo una superficie específica de 130 mm<sup>2</sup>/gr.

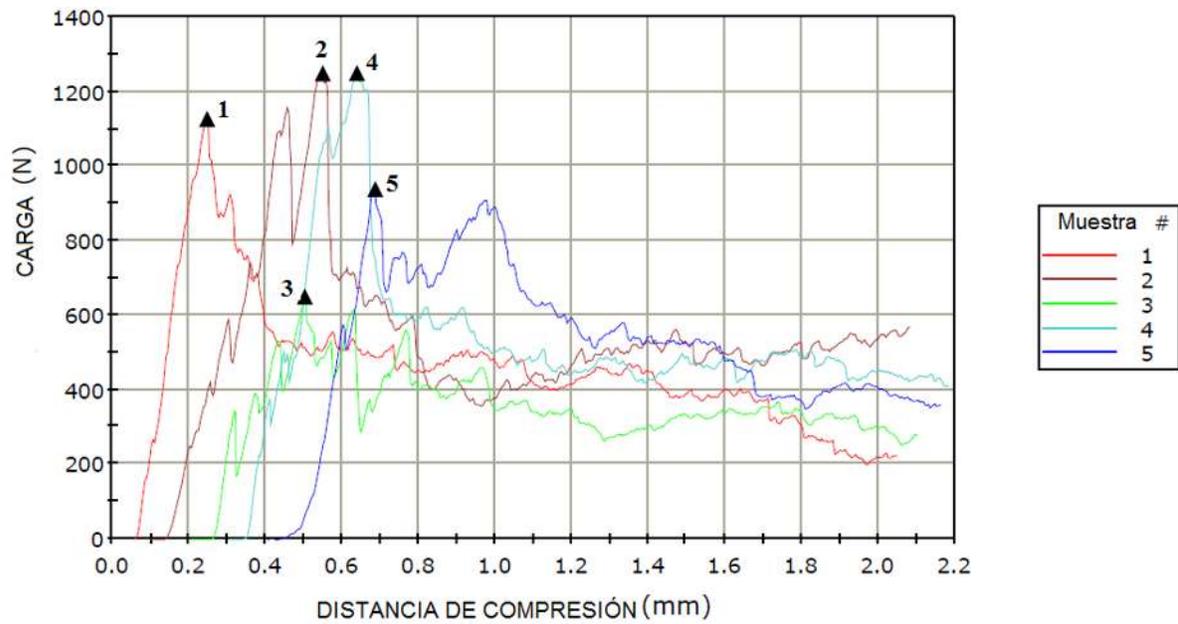
#### **IV.4 Resultados de las pruebas de compresión**

La resistencia a la compresión es definida como el esfuerzo máximo que puede soportar un material bajo una carga de aplastamiento. [84] Los resultados de resistencia a la compresión se muestran en las Figuras. 4.12 y 4.13. La curva obtenida muestra el comportamiento típico

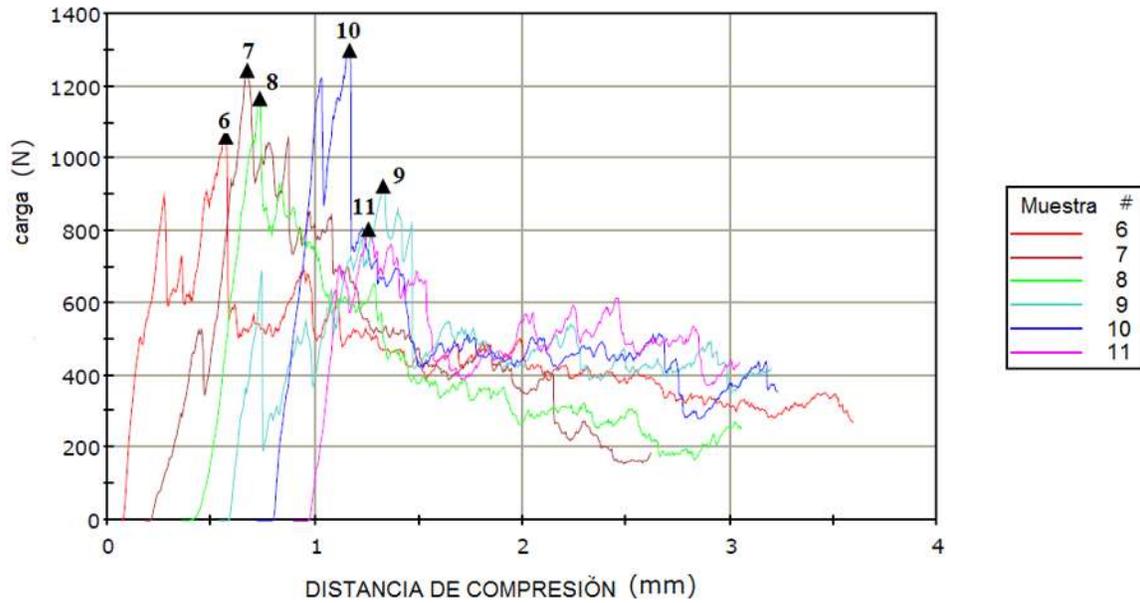
de un material poroso, debido a su naturaleza y fragilidad ocurren una serie de fracturas consecutivas en el material. [54]

Las primeras 5 muestras comenzaron en una distancia de compresión cero, pero la figura las muestra desplazadas un poco para poder observar la diferencia entre ellas.

En total ensayaron 11 probetas para obtener un promedio de las mismas.



**Fig 4. 12** Grafica carga-distancia de compresión del primer grupo de espumas.



**Fig 4. 13** Resistencia a la compresión del segundo grupo de espumas.

En la Tabla IV.6 se pueden observar los valores obtenidos de las 11 probetas sometidas a compresión, así como sus dimensiones, la máxima carga aplicada y la distancia de compresión.

**Tabla IV. 6** Valores de resistencia a la compresión del segundo grupo de espumas

No Muestra	Diámetro (cm)	Altura (cm)	Máxima carga de Compresión (N)	Distancia de compresión(mm)	Máxima resistencia a la compresión. (MPa)
1	1	0.56	1124.36	0.25	14.32
2	1	0.72	1246.33	0.45	15.87
3	1	0.68	649.61	0.30	8.27
4	1	0.51	1247.29	0.33	15.88
5	1	0.50	936.68	0.28	11.93
6	1	0.84	1058.72	0.57	13.48
7	1	0.86	1242.95	0.49	15.83
8	1	0.79	1165.18	0.38	14.84
9	1	0.88	923.22	0.79	11.76
10	1	0.88	1297.32	0.45	16.52
11	1	0.91	804.53	0.36	10.24

Se obtuvo un valor máximo de resistencia a la compresión de 16.518 MPa, haciendo un promedio de los datos obtenidos, se tiene una resistencia a la compresión de 13.54 MPa y una desviación estándar de 2.67. Los resultados obtenidos son extremadamente elevados comparados con otros obtenidos anteriormente, por investigadores que oscilan entre 0.1 y 5 MPa.

Las características específicas de los materiales y el proceso de fabricación de la probeta contribuyen en la distribución de los defectos que a su vez producen una dispersión en los resultados experimentales. Esta dispersión puede ser muy grande como resultado de una distribución de defectos microestructurales. Por lo que varios experimentos deben ser realizados en el mismo material y estos pueden no dar como resultado la misma media aritmética del parámetro crítico de resistencia. Para estudiar este problema Weibull introdujo el concepto de probabilidad de falla,  $P$ , en un valor crítico de resistencia de falla  $\sigma_f$ , normalizado con un valor promedio de un esfuerzo crítico para un sólido frágil. Weibull definió la probabilidad de falla como sigue:

$$\text{Probabilidad de falla } P = 1 - P_s = 1 - \exp \left[ - \left( \frac{\sigma_f}{\sigma_0} \right)^B \right]$$

Donde  $\sigma_f$  es el esfuerzo de falla,  $\sigma_0$  es una constante con unidades de esfuerzo y  $B$  es un exponente regularmente llamado Módulo de Weibull.  $P$  representa la fracción del número total de especímenes de prueba idénticos  $N$  que para los cuales el esfuerzo de falla cae por debajo de  $\sigma_f$ . Similarmente  $P_s$ , es la probabilidad de supervivencia.

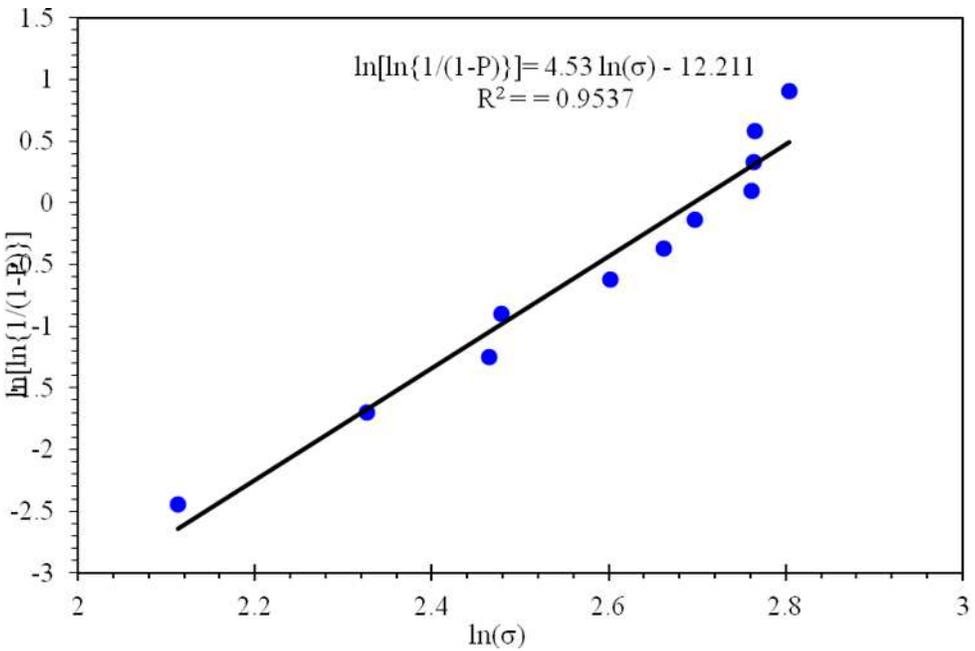
El módulo de Weibull es determinado en la práctica siguiendo: 1) Se ensaya un número  $N$  de especímenes idénticos y del mismo lote son ensayados hasta fallar en carga estática o dinámica y el valor de esfuerzo  $\sigma_f$  apropiado de cada espécimen es determinado. 2) los valores de  $\sigma_f$  son ordenados de mayor a menor dándosele al menor el índice  $i$  de 1 y así sucesivamente, 3) calcular  $P = i/(N + 1)$  para  $1 < i < N$  calcular la función de Weibull. La pendiente de esta función da el módulo de Weibull.

Tomando los resultados de la última columna de la Tabla IV.6 para aplicar la probabilidad de falla mediante el modulo de Weibull mostrado en la Figura 4.14, donde

$$y = mx + b \quad \beta = 2.69$$

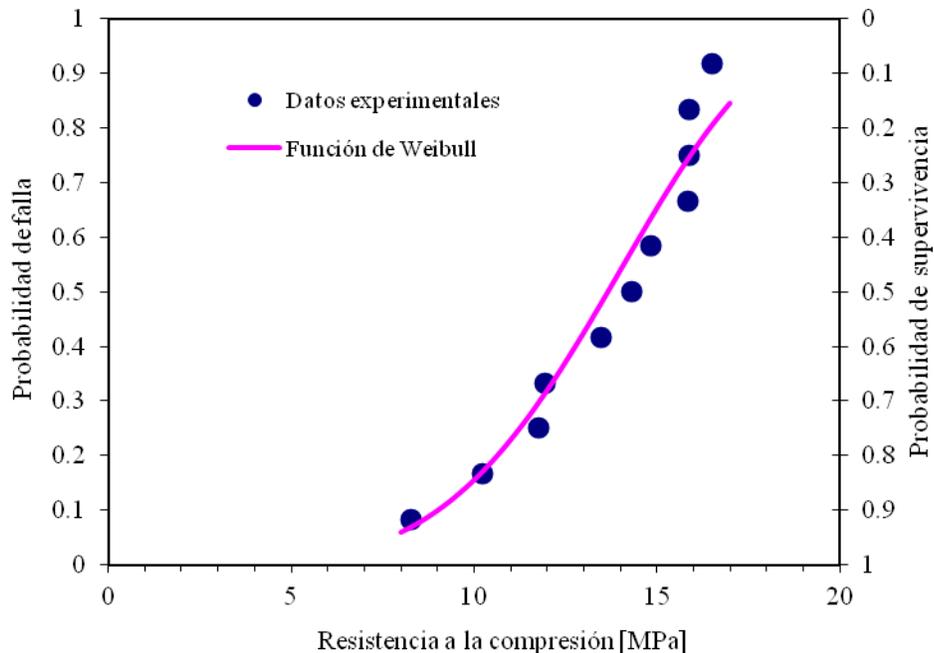
$$y = 12.21x - 4.53$$

$$\sigma_0 = \exp\left(\frac{b}{\beta}\right) = 14.81$$



**Fig 4. 14** Grafica que muestra el modulo de Weibull.

Así, obtenemos la grafica de la Figura 4.15 que nos indica la probabilidad de falla de nuestro material. Como se puede observar a medida que aumentamos la resistencia a la compresión la probabilidad de falla es mayor pero esto es lógico debido a que entre mas carga sea aplicada el material fallara mucho mas rápido y fácil por su estructura.



**Fig 4. 15** Gráfica que nos muestra la probabilidad de falla de las probetas respecto a la resistencia a la compresión.

En la Tabla IV.7 Se pueden observar resultados de diferentes autores, por varios métodos, usando no precisamente biovidrio 45S5, de la fabricación de estructuras porosas para el mismo uso que esta investigación, se puede observar que la resistencia a la compresión es baja respecto a la obtenida en este trabajo.

Este incremento puede estar asociado con la consolidación de los puntales dentro de la estructura de las espumas debido a que las partículas están mejor sinterizadas a medida que la temperatura de sinterización se incrementa, esto conduce a una disminución de la porosidad entre puntales y entre partículas, lo cual lleva a un aumento en la resistencia mecánica de la estructura.

**Tabla IV. 7** Algunos resultados de resistencia a la compresión de estructuras porosas.

<b>Investigador</b>	<b>Año</b>	<b>Técnica</b>	<b>Material</b>	<b>Resistencia a la compresión MPa</b>
Sepulveda <i>et al</i> [65]	2000	Colado de geles y formado mediante agitación vigorosa,	HA	<b>4.7 y 7.4</b>
Callcut <i>et al.</i> [73]	2002	Esponja polimérica		<b>0.01 y 0.017</b>
Sepulveda <i>et al</i> [66]	2002	Colado de geles y formado mediante agitación vigorosa,	HA	<b>1.6 - 5.8</b>
Ramay H. R. <i>et al.</i> [67]	2003	Esponja polimérica	HA	<b>0.55 - 5</b>
Ramay <i>et al.</i> [68]	2004	Esponja polimérica	Trifosfato de calcio+HA	<b>9.8</b>
Jones <i>et al.</i> [69]	2004	Técnica sol-gel	Biovidrio 70S30C	<b>0.5 - 2.5</b>
Miao <i>et al.</i> [64]	2004	Colado de geles y formado mediante agitación vigorosa,	HA	<b>0.8-1.2</b>
Kim <i>et al.</i> [63]	2005	Esponja polimérica	HA	<b>0.2</b>
Cannillo <i>et al.</i> [57]	2010	<i>Salt-Leaching.</i>	PCL9 y Bioglass	<b>0.8</b>
Zoe <i>et al.</i> [70]	2011	Colado de geles y formado mediante agitación vigorosa,	Vidrio ICIE 16	<b>2</b>
Aguilar R	2011	Tecnología de polvos	Bioactivo 45S5	<b>1.7 - 5.5</b>
Chengtie <i>et al.</i> [53]	2011	Técnica sol-gel	Si/Ca/P	<b>16.10 ± 1.53</b>
Liang <i>et al.</i> [59]	2011	Esponja polimérica	Vidrios a base de Boro	<b>0.1 -0.4</b>

## IV.5 Resultados de bioactividad

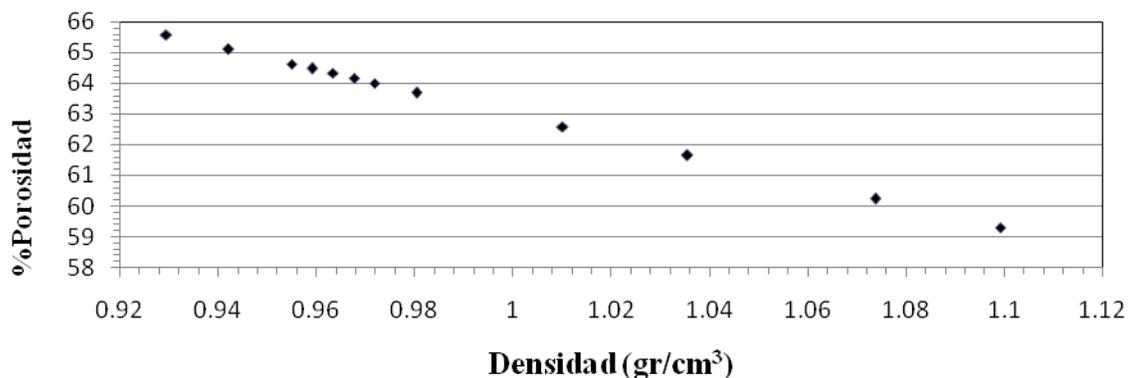
### IV.5.1 Monitoreo del pH después de la inmersión en SBF

Las dimensiones y datos obtenidos de las probetas preparadas para la inmersión en SBF, se muestran en la Tabla IV.8. Estas probetas fueron seleccionadas de las mostradas en la Tabla IV.5, debido a que fue necesario cortarlas en forma de pastilla. De estas 23 solo se ensayaron 14 muestras debido a tiempos de trabajo.

**Tabla IV. 8** Dimensiones de las pastillas fabricadas para la inmersión en SBF

<b>Probetas para pruebas de bioactividad.</b>						
<b>No. muestra</b>	<b>Diámetro (cm)</b>	<b>Altura (cm)</b>	<b>Masa (gr)</b>	<b>Volumen (cm<sup>3</sup>)</b>	<b>Densidad (gr/cm<sup>3</sup>)</b>	<b>% Porosidad</b>
1	1	0.3	0.238	0.23562	1.01010101	<b>62.589</b>
2	1	0.3	0.226	0.23562	0.95917155	<b>64.475</b>
3	1	0.3	0.253	0.23562	1.07376284	<b>60.231</b>
4	1	0.3	0.238	0.23562	1.01010101	<b>62.589</b>
5	1	0.3	0.238	0.23562	1.01010101	<b>62.589</b>
6	1	0.3	0.226	0.23562	0.95917155	<b>64.475</b>
7	1	0.3	0.259	0.23562	1.09922757	<b>59.288</b>
8	1	0.3	0.259	0.23562	1.09922757	<b>59.288</b>
9	1	0.3	0.253	0.23562	1.07376284	<b>60.231</b>
10	1	0.3	0.244	0.23562	1.03556574	<b>61.646</b>
11	1	0.3	0.244	0.23562	1.03556574	<b>61.646</b>
12	1	0.3	0.228	0.23562	0.96765979	<b>64.161</b>
13	1	0.3	0.228	0.23562	0.96765979	<b>64.161</b>
14	1	0.3	0.219	0.23562	0.92946269	<b>65.575</b>
15	1	0.3	0.219	0.23562	0.92946269	<b>65.575</b>
16	1	0.3	0.227	0.23562	0.96341567	<b>64.318</b>
17	1	0.3	0.226	0.23562	0.95917155	<b>64.475</b>
18	1	0.3	0.225	0.23562	0.95492743	<b>64.632</b>
19	1	0.3	0.222	0.23562	0.94219506	<b>65.104</b>
20	1	0.3	0.229	0.23562	0.97190391	<b>64.004</b>
21	1	0.3	0.219	0.23562	0.92946269	<b>65.575</b>
22	1	0.3	0.231	0.23562	0.98039216	<b>63.689</b>
23	1	0.3	0.231	0.23562	0.98039216	<b>63.689</b>

Respecto a estas muestras, se obtuvo una porosidad moderada respecto a la densidad, esta porosidad fue calculada mediante la ecuación (3.1). En la Figura 4.14 podemos observar que a medida que aumenta la densidad en la probeta final, disminuye la porosidad de la misma, de una manera proporcional.



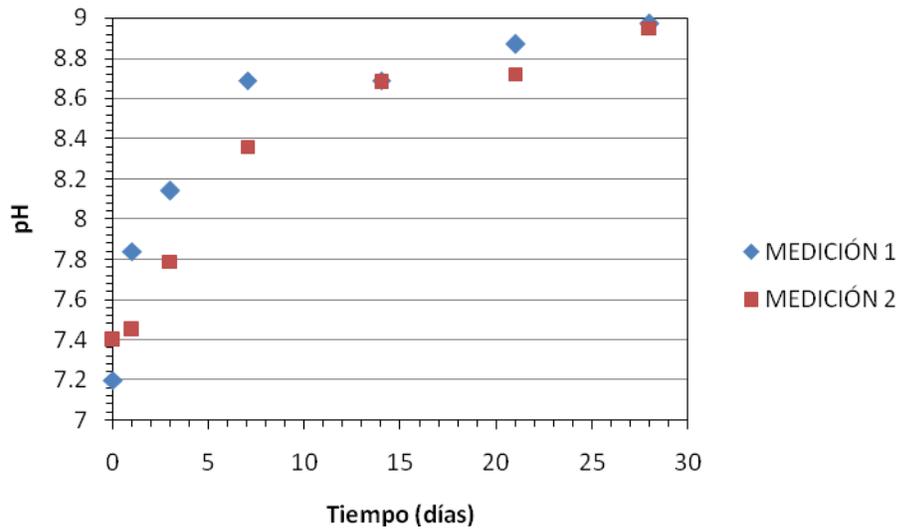
**Fig 4. 16** Cambio de la densidad respecto a la porosidad de las pastillas obtenidas.

En la Tabla IV.9 se muestra el incremento del pH de las 14 muestras sumergidas en SBF. El incremento de PH no fue de manera excesiva lo que nos hace saber que durante el periodo de inmersión se estuvieron liberando sales a medida que pasaron los días. Se puede observar que en las 1eras muestras el pH se elevó más rápido que en las 2das pero el valor final a los 28 días relativamente es el mismo.

En la Figura. 4.15 se observa la comparación entre el incremento del pH en las dos pruebas realizadas, la primera con un pH inicial de 7.2 y la segunda de 7.4. Se puede ver que el comportamiento de incremento es muy similar, el incremento mayor de pH se da durante los primeros 7 días, de ahí en adelante el cambio es mínimo debido que las reacciones más importantes ocurren en los primeros días [46], después de esto la evolución de la capa de hidroxiapatita es mínima.

**Tabla IV. 9** Variación del pH respecto al tiempo

Tiempo en días	Medición 1	Medición 2
0	7.2	7.4
1	7.84	7.45
3	8.14	7.79
7	8.69	8.36
14	8.69	8.68
21	8.87	8.72
28	8.97	8.95

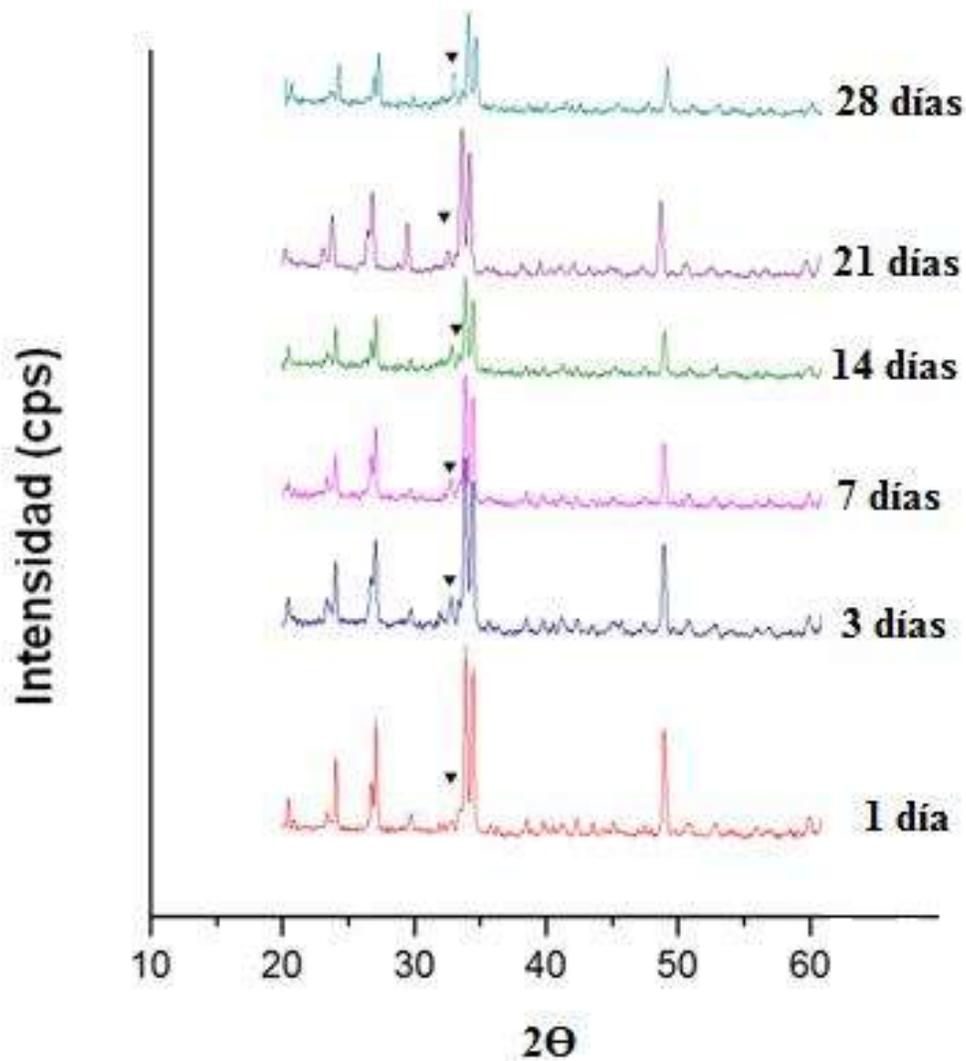


**Fig 4. 17** Variación del pH respecto al tiempo, en las dos mediciones.

#### **IV.5.2 DRX a las muestras después de haber sido sumergidas en SBF**

Como se puede observar en la Figura 4.17 el pico característico del difractograma de rayos X de la fase hidroxiapatita aparece a partir del día 1 y se intensifica con el tiempo de inmersión. Esto implica que la capa de Hidroxiapatita fue aumentando en cantidad. También se observa en el difractograma correspondiente al día 1 que existe mayor grado de cristalinidad y a

medida que transcurre el tiempo de inmersión en SBF, se va **amorfizando**. Estos resultados son similares reportados anteriormente, entre ellos los publicados por Shih *et al.* [85]



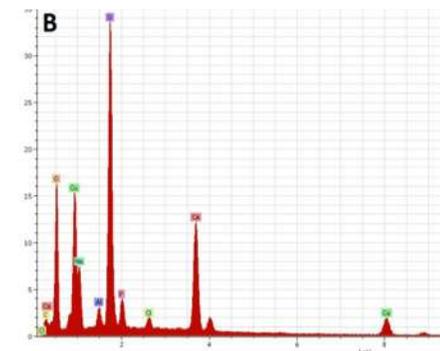
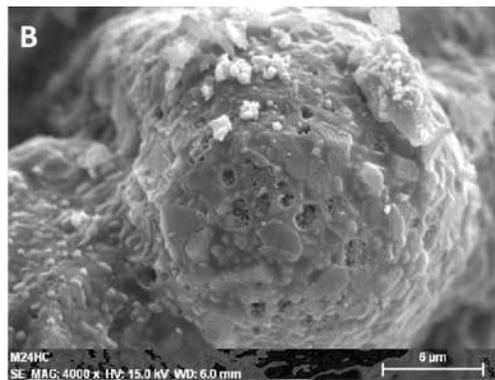
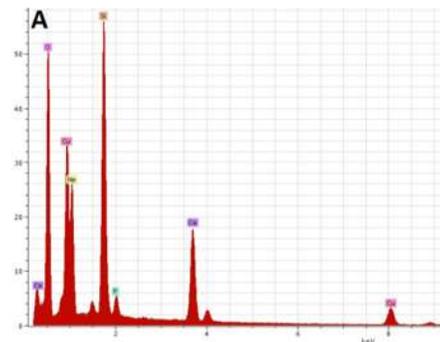
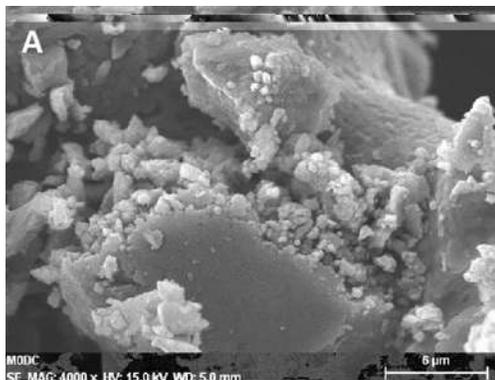
**Fig 4. 18** Patrones de difracción de rayos X mostrando la evolución de la capa de hidroxiapatita (▼).

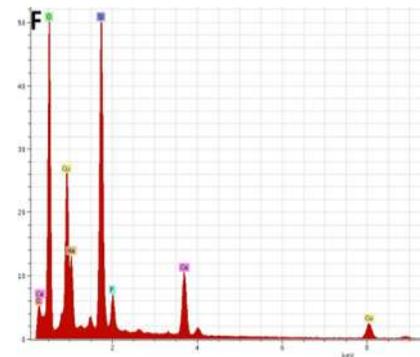
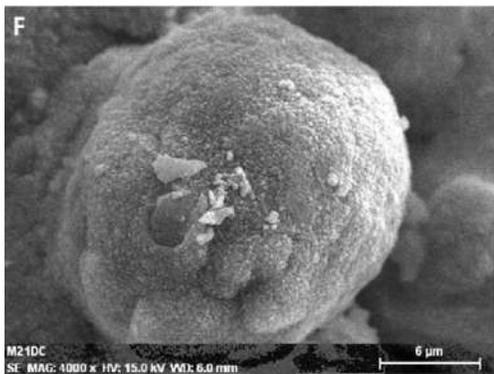
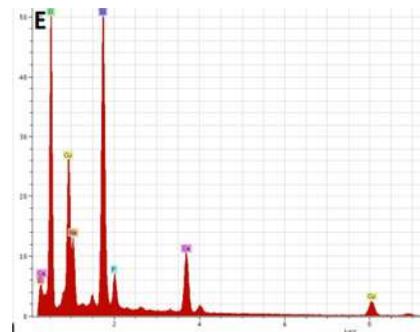
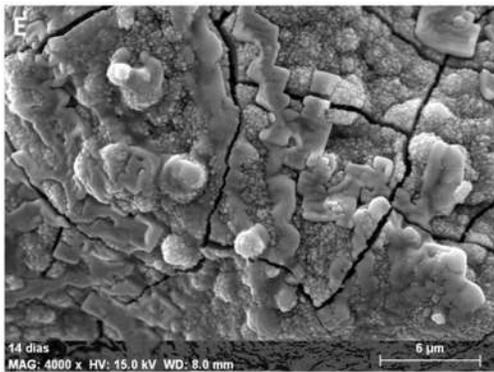
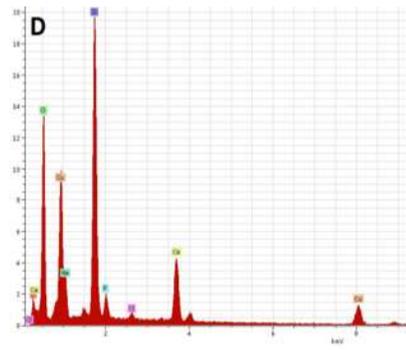
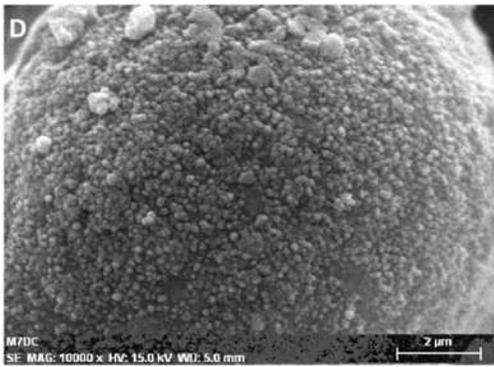
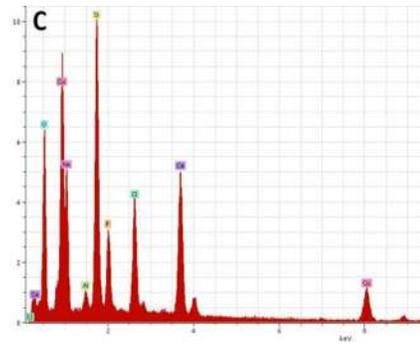
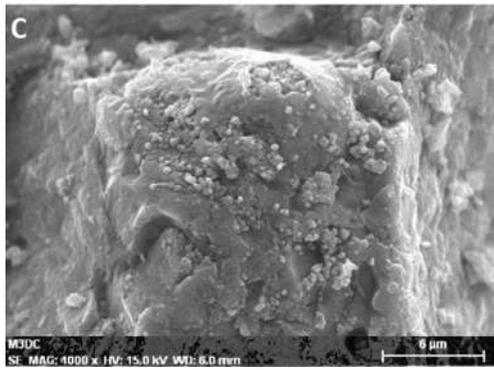
#### **IV.5.3 MEB y EDS de las muestras después de la inmersión en SBF**

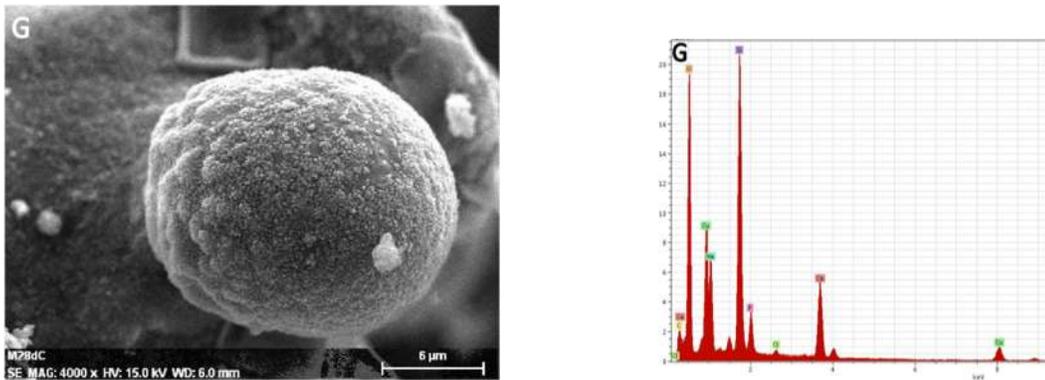
Las imágenes obtenidas por medio de microscopía electrónica de barrido mostradas en la Figura 4.17, corresponden a la sección transversal de las muestras de las espumas al tiempo inicial y después de ser sumergidas en SBF durante 0, 1, 3, 7, 14, 21 y 28 días.

En el tiempo inicial o tiempo cero, sólo se observa el vidrio bioactivo 45S5.

En los tiempos 1 y 3 días se observa como comienza a formarse una capa que no es propia de la fase inicial, se ven pequeñas partículas esféricas en etapa de formación y crecimiento. Después de 7 días de inmersión en SBF puede apreciarse un gran cambio en la morfología superficial. La superficie parece estar recubierta con una capa de un espesor muy pequeño formado por esferas como puede apreciarse en la Figura 4.17 (d). Al mismo tiempo, en la imagen correspondiente a la superficie, se puede ver que los cristales se encuentran recubiertos por dicha capa. Esta capa es probablemente la capa bioactiva de hidroxiapatita que se forma *in vitro* en materiales bioactivos y que permite el enlace directo con el hueso.



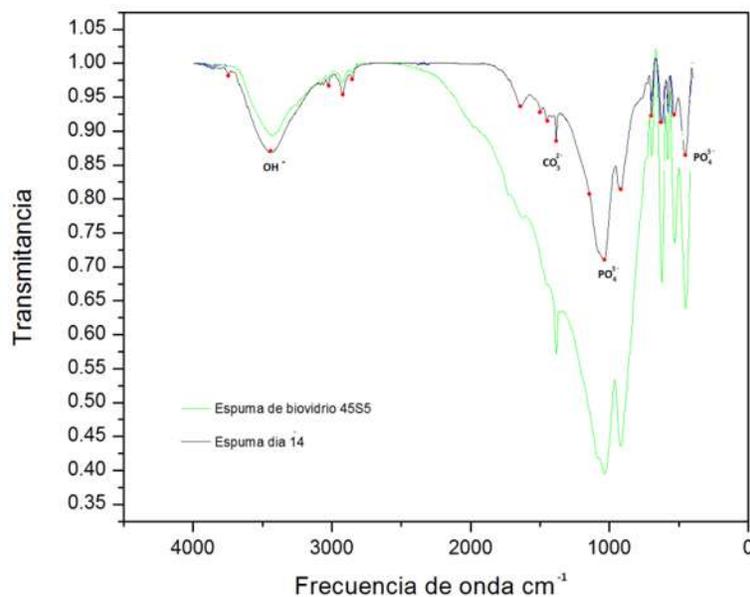




**Fig 4. 19** Morfología de la secciones transversales obtenidas por microscopía electrónica de barrido, de espumas de vidrio bioactivo 45S5, al tiempo inicial (a), e inmersas en SBF durante 1 (b), 3(c), 7(d) ,14(e),21(f) y 28(g) días.

#### IV.5.4 Prueba de espectroscopía infrarroja –FTIR

Las bandas obtenidas para las muestras sinterizadas a 975 °C se muestran en la Figura 4.18. Una HA típica muestra bandas para un espectro FTIR en (3600, 3569, 3578, 3448 y 633)  $\text{cm}^{-1}$  correspondientes a grupos OH-; bandas en (474, 571, 601, 692, 1032  $\approx$ 1087, 1092, 1040)  $\text{cm}^{-1}$  correspondientes a grupos  $\text{PO}_4^{3-}$  y bandas entre (870, 1420 y 1480)  $\text{cm}^{-1}$  si la muestra contiene grupos  $\text{CO}_3$  [47]. Las cuales se encuentran presentes en la muestra sometida a inmersión durante 14 días.



**Fig 4. 20** Análisis de espectroscopía infrarroja.

Los resultados de las bandas obtenidas en la espuma del día 14 mediante la técnica de FTIR se muestran en la Tabla IV.11

**Tabla IV. 10** Bandas obtenidas en FTIR.

<b>Especie</b>	<b>Bandas obtenidas en FTIR</b>			
<b>OH</b>	3746	3409	692	630
<b>CO<sub>3</sub></b>	1483	1450	1384	
<b>PO<sub>4</sub><sup>3-</sup></b>	1038	572	531	

Las muestras tratadas a 975 °C presentan bandas en (3746, 3409, 1483, 1450, 1038, 692, 630, 572) cm<sup>-1</sup>.

Ello significa que se han obtenido los picos representativos de la HA, lo que también indica que se obtuvo HA muy cercana a la estequiométrica.

#### **IV.5.5 Resultados de variación de masa**

En la Tabla IV.11 se puede observar la variación de la masa de las muestras espumadas en función del tiempo de inmersión en SBF.

Los resultados muestran que las muestras no sufren una disolución o degradación al encontrarse sumergidas en SBF. Por el contrario, se puede apreciar un incremento en los valores. Si bien las variaciones son pequeñas, el hecho de que exista una tendencia general al aumento en el peso de las muestras podría explicarse mediante la formación de capa de HA en la superficie de los discos. La variación de la masa del alrededor de 3% alcanza su valor más elevado en el día 14 y luego se vuelve constante.

**Tabla IV. 11** Porcentaje de variación de masa en los discos usados en las pruebas de bioactividad.

<b>Probetas para pruebas de bioactividad.</b>									
<b>Días</b>	<b>D (cm)</b>	<b>Grosor (cm)</b>	<b>Masa (g)</b>	<b>Volumen (cm<sup>3</sup>)</b>	<b>Densidad (g/cm<sup>3</sup>)</b>	<b>% Porosidad</b>	<b>Masa después de la inmersión (g)</b>	<b>Ganancia de masa (g)</b>	<b>% Ganancia de masa</b>
<b>0</b>	1	0.3	0.238	0.23562	1.0101010	62.589	0.235	0.000	<b>0.000000</b>
<b>1</b>	1	0.3	0.226	0.23562	0.9591716	64.475	0.228	0.002	<b>0.884956</b>
<b>3</b>	1	0.3	0.253	0.23562	1.0737628	60.231	0.257	0.004	<b>1.581028</b>
<b>7</b>	1	0.3	0.238	0.23562	1.0101010	62.589	0.241	0.003	<b>1.260504</b>
<b>14</b>	1	0.3	0.238	0.23562	1.0101010	62.589	0.246	0.008	<b>3.151261</b>
<b>21</b>	1	0.3	0.226	0.23562	0.9591716	64.475	0.233	0.007	<b>3.097345</b>
<b>28</b>	1	0.3	0.259	0.23562	1.0992276	59.288	0.267	0.008	<b>3.088803</b>
<b>1</b>	1	0.3	0.253	0.23562	1.0737628	60.231	0.254	0.001	<b>0.395257</b>
<b>3</b>	1	0.3	0.244	0.23562	1.0355657	61.646	0.246	0.002	<b>0.819672</b>
<b>7</b>	1	0.3	0.244	0.23562	1.0355657	61.646	0.245	0.001	<b>0.409836</b>
<b>14</b>	1	0.3	0.228	0.23562	0.9676598	64.161	0.235	0.007	<b>2.894737</b>
<b>21</b>	1	0.3	0.228	0.23562	0.9676598	64.161	0.235	0.007	<b>2.894737</b>
<b>28</b>	1	0.3	0.219	0.23562	0.9294627	65.575	0.225	0.006	<b>2.922374</b>

## CONCLUSIONES

1. Espumas con un porcentaje de porosidad moderado (55-65%), suficiente para ser un andamio regenerativo, fueron sinterizadas exitosamente a partir de una mezcla de polvos de vidrio bioactivo 45S5, ligante y un agente espumante.
2. La porosidad de las espumas es abierta y con un tamaño de poro adecuado para el crecimiento óseo (50-600 $\mu$ m). Fases primaria ( $\text{Na}_6\text{Ca}_3\text{Si}_6\text{O}_{18}$ ) y secundaria ( $\text{Na}_2\text{Ca}_4(\text{PO}_4)_2\text{SiO}_4$ ) fueron observadas, tal como se han reportado por otros investigadores.
3. La resistencia mecánica promedio obtenida de 14 MPa es superior a la requerida para aplicaciones de reconstrucción ósea. La capa de HA en la superficie se formó a los 7 días después de haber sido inmersas en SBF, lo cual atribuye a un buen potencial bioactivo de las mismas.
4. Por lo tanto, la conclusión general es que se pueden fabricar espumas de vidrio bioactivo 45S5 con una porosidad superior al 80%, una resistencia a la compresión elevada y excelente potencial bioactivo mediante el método por tecnología de polvos, controlando los perfiles térmicos de espumado y de sinterización.

## REFERENCIAS

1. Hench L. Bioceramics: from Concept to Clinic. *American Ceramic Society Bulletin*, 72:4. pp. 93-98. April 1993.
2. De Groot K. Ceramics of calcium phosphates Preparations and properties in bioceramics. *CRC Press, Boca Raton*, 100-114. 5. 5, 99, 1983.
3. Borretos J and Eden M. Material and Response Clinical Applications New Technology and Legal Aspects Noyes Press. *Contemporary Biomaterials* Park Ridge, N. Y.134. 1984.
4. Jarcho M, Belen C, Thomas M, and Bobic J. Hydroxyapatite Synthesis and Characterization in Dense Polycrystalline Form. *Journal of Materials Science J MATER SCI* 11, 2027, 1976.
5. Jones R, Eileen G, and Polak J. Bioactive Glass Scaffolds for Bone Regeneration. *Mineralogical Society of America*. . Vol 3 no. 6 p. 393-399.2007.
6. Tervoort E and Ludwig J. Processing Routes to Macroporous Ceramics. *Journal of the American Ceramic Society*., 89 [6] 1771–1789. 2006.
7. Vallet R M. *Biomateriales para sustitución y reparación de tejidos*. Ph. D. Tesis. Departamento de Química Inorgánica y Bioinorgánica. Facultad de Farmacia. Universidad Complutense. Madrid. 2008.
8. Williams D F. *Definitions in Biomaterials. Proceedings of a Consensus Conference of the European Society for Biomaterials*. Vol. 4.Chester, England : Elsevier, 1987.
9. Skalak R. and Fox C. F. *Tissue engineering. Granlibakken, Lake Tahoe: Proc workshop*; New York: Liss; p. 26-9. 3. 1988.
10. Heimke G. Materials for Biomedical Applications. High Long-Term Success Rates Might Pose New Problems. *Angewandte Chemie International. Edition in English* 28, 518, 1989.
11. Szycher M. *Biocompatible Polymers, Metals and Composites* Technomic, Ed Lancaster (Pensylvania), pp. 35-52, 1983.
12. PARK, J.B. *Biomaterials an Introduction*. Ed Plenum Press, New York, pp. 187, 1979.

13. Yannas V, Burke J F, Gordon P L, Huanh C. and Rubenstein R G. Design of an Artificial Skin. Part II. Control of Chemical Composition, *Journal of Biomedical Materials Research* 14:511-528. 1980.
14. Dagalaskis N, Flimk J, Steisikelis P, Burke J F and Yannas I V. Design of an Artificial Skin. Part III. Control of Pore Structure, *Journal of Biomedical Materials Research*, 14, 511. 1980.
15. Lyman D J and Rowland S M. *Biomaterials Medical Applications*, Wiley New York, **52**, 203-204. 1989.
16. Morato. A, Fundación OPTI, *Ciencia de la salud, el futuro de los biomateriales, tendencias tecnológicas a largo plazo* [en línea]. Madrid España. Disponible en [http://www.fenin.es/pdf/prospectiva\\_biomateriales.pdf](http://www.fenin.es/pdf/prospectiva_biomateriales.pdf) . Consultado 16 de enero del 2012.
17. VALLET, R., MUNUERA, L. *Biomateriales: Aquí y Ahora*, Ed. Dykinson, S.L., España, 2000.
18. NAKANO, T., TABATA, Y., AND UMAKOSHI, Y., *Texture and Bone Reinforcement*. Encyclopedia of Materials: Science and Technology Ed Elsevier, Oxford, - pp 1-8. 2005.
19. KUHN, L., *Bone Mineralization* Encyclopedia of Materials: Science and Technology, Ed Elsevier, Oxford, – pp 787-794. 2008.
20. POMPE, W., AND GELINSKY, M., *Biological Structures*. *Encyclopedia of Materials: Science and Technology*, Ed Elsevier, Oxford, – pp 580-584. 2001.
21. HEDBERG, E., AND MIKOS, A. G., *Bone Augmentation and Repair* - Encyclopedia of Materials: Science and Technology, Ed Elsevier, Oxford, – pp 782-787. 2008
22. Estrada C, Paz A C, López L E. Ingeniería de tejido óseo, consideraciones básicas. *Revista EIA*, Número 5 p. 93-100. Junio 2006.
23. PROUBASTA, I., GIL, J., AND PLANELL, J. A., *Fundamentos de Biomecánica y Biomateriales*. Ed. Ergon S.A. pp 345. Madrid 1997.
24. Rey C. Calcium phosphate biomaterials and bone mineral. Differences in composition, structures and properties, *Biomaterials*, **11**, 13-5, 1990.

25. Bohr H, Ravn H O and Werner H. The osteogenic effect of bone transplants in rabbits, *Journal of Bone and Joint Surgery*. 50B, 866-873, 1968.
26. Williams D. *Benefit and risk in tissue engineering*. Mater Today, pp. 24-29. 2004.
27. Oreffo F, Rose R. Bone Tissue Engineering: Hope vs Hype. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 292: 1-7. 2002.
28. Shin H, Jo S, Mikos A G. Biomimetic materials for tissue engineering. *Biomaterials*, 24: 4353-4364. 2003.
29. Leong K F, Du Z. and Chua C K. The Design of scaffolds for use in tissue engineering. Part II. Yang Rapid prototyping techniques. *Tissue Engineering* 8(1):1-11. 2002.
30. Cortés PR. Valdez S, and Robles S, La Ingeniería de Tejidos óseos. *Journal de Investigación de la Escuela de Graduados e Innovación*. 2008.
31. Mistry AS, Mikos AG . Tissue Engineering Strategies for Bone Regeneration. *Advances in Biochemical Engineering/Biotechnology*, 94: 1-22. 2005.
32. Bancroft GN and Mikos AG. Tissue engineering for therapeutic use. (*Proceedings of the 5<sup>th</sup> International Symposium on Tissue Engineering for Therapeutic Use, Tsukuba, 16-17 November 2000*. ICS 1222), 5: 151. 2001.
33. Boyan BD, Hummert TW and Schwartz Z. Role of material surfaces in regulating bone and cell response. *Biomaterials*, 17:137. 1996
34. Schors, EC, y Holmes RE. *Porous hydroxyapatite. An introduction to Bioceramics*. Ed L. L. Hench y J. Wilson Singapore : World Scientific, pp. 181-198. 1993.
35. Roy DM. y Linnehan SK. *Hydroxyapatite formed from coral skeletal carbonate by hydrothermal exchange*. *Nature* vol 247, pp. 220-222. 1974.
36. Frayssinet P, Fages J, Bonel G and Rouquet N. Biotechnology, material sciences and bone repair. *European Journal of Orthopaedic Surgery and Traumatology*, 8: 17-25. 1998.
37. HENCH, L.L., AND ETHRIDGE, E.C., *Biomaterials: An interfacial Approach*. Ed Academic Press. New York : 1982.
38. Gross V, Kinne R, Schmitz HJ and Strunz V. The response of bone to surface active glass/glass-ceramics. *Critical reviews in biochemistry Biocompatibility*, p. 2. 1988.
39. HENCH, L.L., AND WILSON, J.W., *An introduction to Bioceramics*. Ed Singapore : World Scientific, pp. 41-62, 1993.

40. Hench LL, Splinter RJ, Allen WC and Greenlec TK. Bonding mechanisms at the interface of ceramic prosthetic materials. *Journal of Biomedical Materials Research. Symp. No. 2*. Interscience, New York, p. 117. 1972.
41. Hench LL, Shirliff VJ. Bioactive materials for tissue engineering, regeneration and repair. *Journal of materials science*, 38: 4697-4707. 2003.
42. Hench LL. Bioceramics. *Journal of the American Ceramic Society*. Vol. 7, pp. 1705-28. 1998.
43. Hench LL. Sol-gel materials for bioceramic applications. *Current Opinion in Solid State and Materials Science*. pp. 604-10. 1997.
44. Sergey V. Dorozhkin. Calcium Orthophosphates in Nature, Biology and Medicine. *Materials*, 2, 399-498. 2009.
45. Kokubo T and Takadama H. How useful is SBF in predicting in vivo bone bioactivity. *Biomaterials* 27, 2907–2915. 2006.
46. Ginebra MP and Traykova T. Calcium phosphate cements as bone drug delivery systems: A review - M.P. *Journal of Controlled Release* 113 102– 110 .2006.
47. Londoño ME, Echavarría A, De La Calle F. Características cristaloquímicas de la hidroxiapatita sintética tratada a diferentes temperaturas. *Revista EIA, ISSN 1794-1237 número 5 p.* 109-118. 2006.
48. Ménde M, *Desarrollo de la porosidad en hidroxiapatita y recubrimientos cerámicos para usos ortopédicos*. Ph D Tesis. Tecnología Avanzada. Instituto politécnico nacional. Centro de investigaciones en ciencia aplicada y tecnología avanzada, 2007.
49. Schwartwalder K and Somers AV. *Method of making porous ceramic*. United States Patents Application US 3090094 1963.
50. Woyansky S, Scott CE and Minnear WP. Processing of Porous Ceramics. *Journal of the American Ceramic Society* Vol. 71, pp. 1674-82. 1992.
51. Lefevre LP and Thomas Y, *Method of making open cell material*. Unated States Patent Application US, 6660, 224, B2 DEC 9. Montreal (CA), 2003.
52. Cheung S, Gauthier M., Lefebvre LP, Dunbar M, Filiaggi M. Fibroblastic interactions with high-porosity Ti-6Al-4V metal foam. *Journal of Biomedical Materials Research Part B: Applied Biomaterials*, Vol. 82, pp. 440-449. 2007.

53. Chengtie W, Yongxiang L , Cuniberti G , Yin Xiao , Gelinsky M Three-dimensional printing of hierarchical and tough mesoporous bioactive glass scaffolds with a controllable pore architecture, excellent mechanical strength and mineralization ability. *Acta Materialia Inc Jun*;7(6):2644-50 2011.
54. Qizhi Z. Chena I, Thompsonb D, Boccaccini AR. 45S5 Bioglasss-derived glass–ceramic scaffolds for bone tissue engineering. *Biomaterials* 27 2414–2425.2006.
55. Sepulveda P. Jones JR, Hench LL. Bioactive sol-gel foams for tissue repair. *Journal of Biomedical Materials Research. Feb*United Kingdom 59(2):340-8. 2002.
56. Yufang Z, Chengtie W, Ramaswamy Y, Kockrick E , Simon P , Kaskel S , Zreiqat H. Preparation, characterization and in vitro bioactivity of mesoporous bioactive glasses (MBGs) scaffolds for bone tissue engineering. *Microporous and Mesoporous Materials* 112 494–503 2008.
57. Cannillo F, Chiellini P, Fabbri A, Production of Bioglass 45S5 -Polycaprolactone composite scaffolds via salt-leaching. *Composite Structures* 92 1823-1832 2010.
58. In-Kook J, Young-Hag K and Hyoun-Ee K. Fabrication of a Highly Porous Bioactive Glass–Ceramic Scaffold with a High Surface Area and Strength. *Journal of the American Ceramic Society.* 89 [1] 391–394 2006.
59. Liang W, Tu Y, Zhou H, Liu C, Rüssel C. Borophosphate glass-ceramic scaffolds by a sodium silicate bonding process. *Journal of the American Ceramic Society.* 68 [2] 391–354. 2011.
60. Chung-Cherng L, Li-Chen H. and Pouyan S. Na<sub>2</sub>CaSi<sub>2</sub>O<sub>6</sub>-P<sub>2</sub>O<sub>5</sub> based bioactive glasses. Part 1: Elasticity and structure. *Journal of Non-Crystalline Solids*, pp. 3195-3203. 2005.
61. Rohanova D, Boccaccini AR, Yunos DM, Horkavcova D, Brezovska I, Helebrant A. Buffer in simulated body fluid distorts the assessment of glass–ceramic scaffold bioactivity. *Acta Biomaterialia*, 166 28 2011.
62. Fu Q, Rahaman MN , Bal BS, Brown RF and Delbert E. Mechanical and in vitro performance of 13–93 bioactive glass scaffolds prepared by a polymer foam replication technique. *Acta Biomaterialia* 4 1854–1864 2008 .

63. Kim HW, Knowles JC, Kim HE. Hydroxyapatite porous scaffold engineered with biological polymer hybrid coating for antibiotic vancomycin release. *Journal of Materials Science: Materials in Medicine*; 16:189–95. 2005.
64. Miao X, Lim G, Loh KH, Boccaccini AR. Preparation and characterisation of calcium phosphate bone cement. *Mater Proc Prop Perf*; 3:319–24.2004.
65. Sepulveda P, Binner JGP, Rogero SO, Higa OZ, Bressiani JC. Production of porous hydroxyapatite by the gel-casting of foams and cytotoxic evaluation. *Journal of Biomedical Materials Research*. 50:27–34. 2000.
66. Sepulveda P, Bressiani AH, Bressiani JC, Meseguer L, Konig Jr. B. In vivo evaluation of hydroxyapatite foams. *Journal of Biomedical Materials Research*. 62:587–92. 2002.
67. Ramay HRR, Zhang M. Preparation of porous hydroxyapatite scaffolds by combination of the gel-casting and polymer sponge methods. *Biomaterials*; 24:3293–302. 2003.
68. Ramay HRR, Zhang M. Biphasic calcium phosphate nanocomposite scaffolds for load bearing bone tissue engineering. *Biomaterials*. 25:5171–80. 2004.
69. Jones JR, Hench LL. Factors affecting the structure and properties of bioactive foam scaffolds for tissue engineering. *Journal of Biomedical Materials Research. Part B: Appl Biomater* ; 68B:36–44 2004.
70. Zoe Y, Robert GH, Sheng Y , Nightingale D , Lee PD , Jones JR. Melt-derived bioactive glass scaffolds produced by a gel-cast foaming technique. *Acta Biomaterialia* 7 1807–1816, 2011.
71. Janney MA, Marietta M. *Method for molding ceramic powders*; United States Patents Application Number: 158485, assignee US 1990.
72. Omatete O, Janney MA, Nunn SD. Gelcasting: from laboratory development toward industrial production. *Journal of the European Ceramic Society*; 17:407–13.1996.
73. Callcut S, Knowles JC. Correlation between structure and compressive strength in a reticulated glass-reinforced hydroxyapatite foam, *Journal of Materials Science: Materials in Medicine*, pp.485-489, Vol.13 2002.
74. Jacinto DB. *Procesamiento de espumas de vidrio 45S5 por metalurgia de polvos*. Tesis de maestría en metalurgia y ciencias de los materiales, UMSNH, Agosto 2011.

75. POITOUT D. *Biomechanics and Biomaterials in Orthopedics* . 1st ed. published by Springer in 2004.
76. Lefebvre, LP, Gremillard, L, Chevalier J, Zenat R. and Bernache-Assolant D. Sintering behaviour of 45S5 bioactive glass. *Acta Biomaterialia*, pp. 1894-1903. 2008.
77. WESLEY, W., WENDLANDT, M. *Thermal Analysis*. Thrid Edition. John Wiley and Sons, 1986. pp. 228-241.
78. Gauthier M, Lefebvre LP, Thomas Y. and Bureau MN. Production of metallic foams having open porosity using a powder metallurgy approach. *Materials and Manufacturing processes*, Vol. 19, pp. 793-811. 2004.
79. St-Pierre JP, Gauthier M, Lefebvre LP, Tabrizian M. Three-dimensional growth of differentiating MC3T3-E1 pre-osteoblasts on porous titanium scaffolds. *Biomaterials*, pp. 7319-7328. 2005.
80. Wazen MR, Lefebvre LP, Baril E, Nanci A. Initial evaluation of bone ingrowth into a novel porous titanium coating. *Journal of Biomedical Materials Research Part B: Applied Biomaterials*, pp. 64-71. 2010.
81. Lefebvre LP, Chevalier J, Gremillard L, Zenati R. and Thollet G. Structural transformations of bioactive glass 45S5 with thermal treatments. *Acta Materialia*, Vol. 55, pp. 3305-3313. 2007.
82. Chung-Cherng L, Li-Chen H and Pouyan S. Na<sub>2</sub>CaSi<sub>2</sub>O<sub>6</sub>-P<sub>2</sub>O<sub>5</sub> based bioactive glasses. Part 1: Elasticity and structure. *Journal of Non-Crystalline Solids*, pp. 3195-3203. 2005.
83. Boccaccini AR, Chen Q, Lefebvre L, Gremillard L and Chevalier J. Sintering, crystallisation and biodegradation behaviour of Bioglass -derived glass- ceramics. *Faraday Discuss*, pp. 27-44. 2007.
84. HIBBELER, R.C., *Mecánica De Materiales octava Edición*. Pearson, Prentice Hall. 2005.
85. Shih CJ, Chen HT, Huang LF, Lu PS, Chang HF, Chang IL, Synthesis and in vitro bioactivity of mesoporous bioactive glass scaffolds, *Materials Science and Engineering C* 30, 657–663. 2010.

